

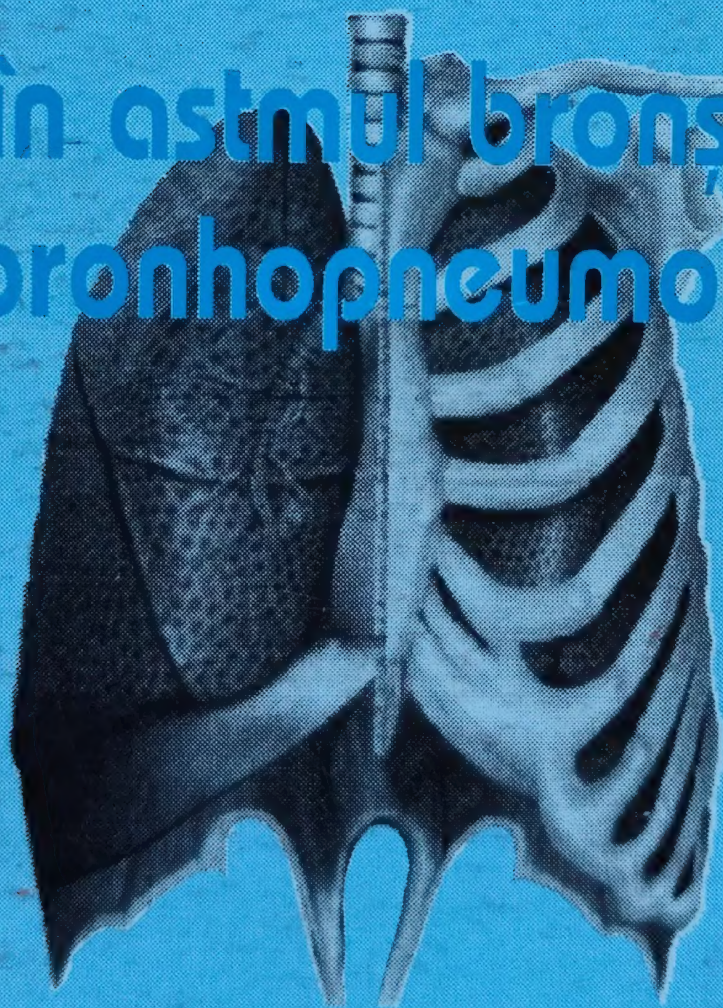
**FRANCISC SCHNEIDER**

**ANA PETROIU**

**GEORGETA MIHALAȘ**

# **BRONHOMOTRICITATEA**

**În astmul bronsic  
și bronhopneumopatii**



**EDITURA „VIAȚA MEDICALĂ ROMÂNEASCĂ”  
1998**



**FRANCISC SCHNEIDER**  
**ANA PETROIU**      **GEORGETA MIHALAŞ**

# **BRONHOMOTRICITATEA**

## **În astmul bronşic şi bronhopneumopatii**



**Ana Petriu**  
profesor de fiziologie la Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină şi Farmacie Timişoara  
a Universităţii de Medicină şi Farmacie Timişoara

**Georgeta Mihalas**  
conf. univ. la Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină şi Farmacie Timişoara  
in colaborare cu asistenţii de la Catedra de fiziologie a Universităţii de Medicină şi Farmacie Timişoara

**Corina Bunu**  
**Ioana Siska**  
**Gabriela Tănăsie**

ISBN 978-973-0-1-0000-0

Colectia: **Tratate de fiziologie**

Coordonator: **Dr. Ana Petriu**

Redactor: **Dr. Dumitru Nicolescu**

Tipografia: **Tipografia Universitatii de Medicină şi Farmacie Timişoara**

**Mulțumim pentru sprijinul acordat la apariția acestei cărți Fundației „Vasile Goldiș” și Universității de Vest „Vasile Goldiș” din Arad.**

## **AUTORI**

### **Francisc Schneider**

profesor de fiziologie, la Universitatea de Medicină și Farmacie-Timișoara și la Facultatea de medicină a Universității „Vasile Goldiș” – Arad.

### **Ana Petroiu**

profesor de fiziologie, la Universitatea de Medicină și Farmacie-Timișoara și la Facultatea de medicină a Universității „Vasile Goldiș” – Arad.

### **Georgeta Mihalaș**

conferențiar de fiziologie, la Universitatea de Medicină și Farmacie-Timișoara.

În colaborare cu asistenții de la Catedra de fiziologie a Universității de Medicină și Farmacie – Timișoara:

**Carmen Bunu**

**Ioana Siska**

**Gabriela Tănasie**

Redactor de carte: Dr. Laurențiu REMBAS

Tehnoredactor: Ioan DUMITRESCO

Tehnoredactare computerizată  
și coperta:

Gina MANCIU

Operatori computer:

Daniela RADU  
Berta ALEXE

Corectură:

Gina PETRESCU  
Emil FRĂȚILĂ

ISBN 973-9320-20-1

**FRANCISC SCHNEIDER**  
**ANA PETROIU      GEORGETA MIHALAȘ**

# **BRONHOMOTRICITATEA**

## **în astmul bronșic și bronhopneumopatii**



**Editura VIAȚA MEDICALĂ ROMÂNEASCĂ**

**București - 1998**



# CUPRINS

CUVÂNT INTRODUCATIV – Acad. Ioan Haulică .....	7
INTRODUCERE ÎN BRONHOMOTRICITATE .....	9
BRONCHOMOTRICITY IN BRONCHIC ASTHMA AND BRONCHOPNEUMOPATHY .....	8
1. CĂILE AERIFERE ȘI SISTEMUL FUNCȚIONAL RESPIRATOR .....	11
1.1. Organizare funcțională .....	11
1.2. Relația căi aerifere – flux aerian .....	15
2. PARTICULARITĂȚI FUNCȚIONALE ALE MUSCULATURII NETEDE	
TRAHEO-BRONȘICE .....	21
2.1. Structura funcțională a fibrei musculare netede a căilor respiratorii .....	21
2.2. Proteinele contractile și reglatoare ale fibrei musculare netede traheo-bronșice .....	23
2.3. Reglarea elementelor contractile ale fibrei musculare netede traheo-bronșice .....	26
2.4. Mecanismele de cuplare în fibra musculară netedă a căilor respiratorii .....	33
2.5. Bazele biochimice ale contracției mușchiului neted al căilor respiratorii .....	37
2.6. Efectele nucleotidelor ciclice AMPc (adenozina 3', 5' – ciclic monofosfat) .....	44
3. REGLAREA NERVOASĂ A CONTRACTILITĂȚII MUSCULATURII NETEDE	
TRAHEO-BRONȘICE .....	51
3.1. Rolul sistemului nervos colinergic .....	51
3.2. Sistemul adrenergic .....	53
3.3. Sistemul nonadrenergic noncolinergic .....	57
4. ROLUL CELULARITĂȚII CĂILOR AERIFERE	
ÎN MODULAREA BRONHOMOTRICITĂȚII .....	63
4.1. Celulele epiteliale .....	63
4.2. Celulele endoteliului vascular .....	68
4.3. Mastocitul .....	69
4.4. Fibroblastul .....	70
4.5. Granulocitele .....	71
4.6. Limfocitele .....	72
4.7. Sistemul monocito-macrofagic .....	73
4.8. Trombocitul .....	74





<b>5. INFLAMAȚIA ȘI BRONHOMOTRICITATEA</b>	<b>77</b>
<b>6. TONUSUL ȘI RESPONSABILITATEA BRONȘICĂ</b>	<b>87</b>
6.1. Rolul sistemului nervos autonom în hiperreactivitatea bronșică	89
6.2. Rolul mediatorilor inflamatori	94
<b>7. CERCETĂRI EXPERIMENTALE PE ORGAN IZOLAT</b>	
<b>ASUPRA BRONHOMOTRICITĂȚII</b>	<b>107</b>
7.1. Efectul contractil al acetilcolinei, histaminei și al alcoolului	107
7.2. Influența blocantelor canalelor de calciu asupra tonusului bronhomotor	112
7.3. Efectul relaxant al catecolaminelor	127
<b>8. STUDII CLINICE PRIVIND BRONHOMOTRICITATEA</b>	<b>133</b>
8.1. Variația parametrilor ventilatori în cadrul unor teste de responsivitate bronșică	134
8.2. Implicațiile blocantelor canalelor de calciu în reglarea bronhomotricității	137
8.3. Variația rezistenței la flux și conductanței căilor respiratorii la pacienții astmatici	156
8.4. Corelația între parametrii ventilometrici de pe curba flux-volum – VEMS, PEF, FEF <sub>x%</sub> – și parametrii pletismografici – Raw și sGaw în astmul bronșic	161

## BRONHOMOTRICITY

in bronchic asthma and bronchopneumopathy

Francisc Schneider, Ana Petroiu and Georgeta Mihalaș

### Contents

Foreword: Ioan Haulică	7
Introduction in bronchomotricity	9
1. Airways and respiratory functional sistem	11
2. Functional particularities of the tracheo-bronchic smooth muscle	21
3. Nervous regulation of traheo-bronchic smooth muscle	51
4. Airway cellularity role in bronchomotricity modulation	63
5. Inflammation and bronchomotricity	77
6. Bronchic tonus and responsivity	87
7. Experimental research on isolated organ	107
8. Clinical studies on bronchomotricity	133



## Cuvânt înainte

O dublă motivație m-a determinat să accept cu interes și plăcere, a-mi prezenta sub această formă punctul de vedere asupra lucrării monografice elaborată de către colegii profesori Fr. Schneider, Ana Petroiu și Georgeta Mihalas de la școala medicală timișoreană.

Prima motivație privește acoperirea golului existent în literatura medicală de specialitate cu un material de ansamblu asupra factorilor de reglare a bronhomotricității normale și patologice. Lucrarea răspunde unei necesități stringente de informare și instruire a medicilor practicieni, cercetătorilor și studenților interesați de stadiul actual al cunoștințelor referitoare la particularitățile funcționale și bazale neuro-umorale și celulare ale contractilității musculaturii netede de la nivelul căilor respiratorii.

Cea de-a doua motivație se referă la autorii lucrării, distinși specialiști, cu o bogată și îndelungată experiență (de peste 20 ani) în domeniul cercetărilor experimentale și explorărilor paraclinice a ventilației pulmonare. Întregind datele noi din literatură cu rezultatele interesantelor cercetări personale, autorii realizează o valoroasă, utilă și intens trăită operă științifică.

Cele opt capitole care compun lucrarea, tratează, rând pe rând, într-o manieră clară, sistematică și cuprinzătoare, particularitățile morfo-funcționale ale căilor respiratorii, tonusul și responsivitatea bronsică, reglarea și modularea contractilității musculaturii netede traheo-bronșice, studiul clinic și paraclinic al bronhomotricității în astmul bronșic și alte bronhopneumopatii.

Oferind cunoștințe teoretice și tehnice de mare actualitate și utilitate, lucrarea se adresează astfel tuturor celor preocupați de cunoașterea și însușirea achizițiilor cognitive și aplicative noi din domeniul bronhomotricității normale și patologice.

Acestea sunt în esență, considerentele pentru care felicit pe autori și recomand realizarea lor editorială întregului corp medical.

**I. HAULICĂ**



# **BRONCHOMOTRICITY in bronchic asthma and bronchopneumopathy**

*By respiratory system mediation, on tens of square meters, the human body contacts directly the external air environment, circulating daily by respiration thousands of liters of air.*

*Air-contaminants, of various nature-gaseous or particles, get into respiratory airways where they act either directly – by their toxicity, or indirectly – by facilitating secondary action of infectious agents and/or local and general immunoallergic reactions.*

*The interest for a deeper insight into bronchomotricity intimacy is justified by at least two reasons. On one hand, for medical practice – diseases with bronchospastic manifestation and bronchospasmolytic medication and, on the other hand, from a fundamental point of view, for the particular features of tracheobronchic smooth muscle.*

*Over two decades of research in this field carried by the physiology school of Timișoara, in both fundamental and application domains yielded an immense amount of both experimental and clinical research data, which, processed and filtered according to specialty references, became the basis of this handbook.*

*In the first part there are presented: the functional respiratory system, functional particularities of the tracheo-bronchic smooth muscle nervous regulation of tracheo-bronchic smooth muscle contractility, airway cellularity – role in bronchomotricity modulation, inflammation and bronchomotricity and bronchic responsivity.*

*The second part is dedicated to original experimental research of bronchomotricity, on isolated organ, approaching both constrictor and relaxing substances. Demonstration of the dual effect of alcohol as well as calcium channel blockers influence on bronchomotor tone are emphasized.*

*The final part is devoted to clinical studies on bronchomotricity, presenting both routine methods research as well as airway resistance studies. A high emphasis was put on pharmacodynamic tests and the value and the limits of various investigation methods are underlined.*



## INTRODUCERE ÎN BRONHOMOTRICITATE

Prin intermediul aparatului respirator, pe o suprafață de zeci de metri pătrați, organismul vine în contact direct cu mediul extern aerian, vehiculând zilnic, pe cale ventilatorie, mii de litri de aer.

Aerul pe care-l respirăm, atât în condițiile tehnologiei industriale și agricole, cât și a combustibililor din mijloacele de transport, a încălzirii domestice și, nu în ultimul rând, a fumului de tutun, poate constitui un factor perturbator ce favorizează, declanșează, întreține sau agravează o serie de afecțiuni respiratorii. Printre acestea se numără și afecțiunile bronhospastice.

Numeroase cercetări epidemiologice au stabilit o corelație netă între poluarea atmosferică și fenomenele bronhospastice. S-a semnalat chiar o relație doză-efect între concentrația unor aeropoluanți și gravitatea manifestărilor bronhospastice.

Aerocontaminanții de natură diferită, gazoși și particulați, pătrund în căile respiratorii, unde acționează fie direct, prin toxicitatea lor, fie indirect, prin favorizarea acțiunilor secundare ale agenților infecțioși sau/și prin reacții imunoalergice locale și generale.

Omul dispune de mecanisme de apărare față de poluanți. Capacitatea de apărare este însă limitată și se referă la poluanți accidentali, la care omul a fost expus din cele mai vechi timpuri (praf, fum). În plus se consemnează stări cu capacitate scăzută de apărare față de poluanții atmosferici. În această categorie intră tarele genetice manifestate prin deficit de IgA, deficit de  $\alpha_1$  – antitripsină etc. Un loc aparte îl ocupă persoanele atopice, cu predispoziție pentru fenomene alergice induse primar sau secundar de anumiți poluanți. Aceștia prezintă reacții în cerc vicios ce impietează asupra funcției respiratorii și, în același timp, reduc capacitatea de apărare, concomitent cu favorizarea infecțiilor ce amplifică dezechilibrul.

Consecințele sunt: iritația – inflamația locală și alterări structural-funcționale, cu eliberarea unor substanțe biologic active cu efect bronhoconstrictor.



Interesul pentru cunoașterea bronhomotricității este justificat cel puțin din două considerente: pe de o parte, pentru practica medicală, bolile cu manifestări bronhospastice și medicația bronhospasmodică și, pe de altă parte, sub aspect fundamental, pentru particularitățile musculaturii netede traheobronșice.

Preocupările de peste două decenii ale școlii de fiziologie din Timișoara, atât în domeniul fundamental, cât și aplicativ, au permis adunarea unui imens material de cercetări experimentale și clinice, care, prelucrate și filtrate în lumina datelor bibliografice, au stat la baza acestei monografii.



# 1. CĂILE AERIFERE ȘI SISTEMUL FUNCȚIONAL RESPIRATOR

Sistemul funcțional respirator cuprinde o multitudine de subsisteme implicate în schimbul gazos al organismului cu mediul ambiant, cât și în homeostazia oxigenului (asigurarea aportului, transportului, utilizării în metabolismul celular) și a bioxidului de carbon (producerea, transportul și eliminarea). În acest sistem sunt implicate în mod unitar numeroase alte subsisteme: reglatoare (neuro-umorale), efectoare (sistemul mecanic toraco-pulmonar), de schimb (alveolo-capilar), de transport (circulația sângelui) etc.

## 1.1. Organizare funcțională

În linii mari, în cadrul sistemului funcțional respirator, se detașează doi poli: pulmonar (respirație pulmonară) și celular (respirație celulară), legați între ei de sângele circulant.

Respirația pulmonară asigură mobilizarea aerului din atmosferă în plămâni și din plămâni în atmosferă, precum și schimburile gazoase dintre aerul alveolar și sângele din capilarele pulmonare. Suportul structural al respirației pulmonare cuprinde trei componente: un sistem de conducte aeriene (căile respiratorii), un sistem de transfer (țesutul pulmonar) și un sistem mecanic de pompă (toraco-pulmonar).

Căile respiratorii servesc pentru tranzitul bidirecțional al aerului între atmosferă și alveole, asigură în același timp, pe de o parte, optimizarea aerului inspirat și pe de altă parte, realizarea unor funcții speciale, cum sunt olfacția și fonația.

Căile respiratorii pot fi divizate în trei zone:

- a) Căile aerifere superioare, nazo-buco-faringiene, până la glotă;
- b) Căile aerifere inferioare centrale, laringo-traheo-bronșice, până la conducte cu diametrul de 2 mm;
- c) Căile aerifere inferioare periferice, bronhii cu diametrul de 2 mm și bronhiiolele.



Căile aerifere superioare reprezintă prima barieră împotriva aerocontaminanților particulați. Traseul lor angular constituie un sistem aerodinamic de filtrare, capabil să rețină 90% din particulele ce depășesc trei  $\mu\text{m}$ . În același timp are loc un proces de încălzire și de umectare a aerului inspirat pe seama mucoasei nazale bine vascularizate și a glandelor acinoase cu celule mucoase și seroase. Inervată senzitiv de trigemen, este zona reflexogenă a strănutului.

Inelul limfatic al laringelui are rol în apărarea antimicrobiană. Când respirația se face pe gură, efectele de barieră sunt mult mai reduse.

Căile aerifere inferioare centrale continuă optimizarea aerului inspirat. Mucoasa traheei și a bronhiilor proximale permite atât reținerea chiar a particulelor de sub 3  $\mu\text{m}$ , cât și dizolvarea, în parte, a poluanților gazoși, cu eliminarea lor apoi prin mecanism mucociliar. Acest proces se desfășoară în continuare și, de asemenea, în căile inferioare periferice.

Terminațiile nervoase din mucoasa laringiană, traheală și bronșică constituie receptori reflexului de tuse, cu căile aferente glosofaringiene și vagale. Tusea este declanșată de stimuli mecanici ce acționează electiv asupra laringelui, bifurcației traheei și pintenilor de bifurcație a bronhiilor mari, cât și de stimuli chimici ce acționează electiv asupra bronhiilor distale.

Deci arborele traheo-bronșic, pe lângă funcția de conducte aeriene, continuă optimizarea aerului inspirat. Este constituit dintr-o serie de tubi ramificați dicotomic, cu o structură epitelio-mezenchimală. În mucoasă predomină celulele ciliate și secretorii.

Submucoasa are glande bronșice până la bronhii cu diametrul de 2 mm, ale căror conducte se deschid pe suprafața mucoasei. Cartilajul, în formă de potcoavă, are o structură unitară până la nivel lobar, apoi se fragmentează și se reduce treptat, ca la bronhiiolele mari să lipsească. Partea liberă de cartilaj este ocupată de fascicule musculare. Spațiul peribronșic are un bogat țesut limfatic.

Bronhiile sunt canale independente de țesutul pulmonar, care, prin divizare dicotomică de zece ori ( $2^{10}$ ), ajung la aproximativ 1000 ramificații, corespunzător celor mai mici bronhii cu cartilaj, cu diametrul de până la 2 mm. Tunica lor musculară în ramurile mici este formată din fibre dispuse spiralat sau circular, cu rol în reglarea lumenului. Bronhiile mici, cu diametrul de sub 2 mm ( $2^{11} - 2^{12}$ ) sunt lipsite de cartilaj, contractilitatea musculaturii fiind mai eficientă față de cele cu cartilaj. Acestea se continuă cu bronhiole, cu diametrul mai mic de 1 mm, incluse organic în țesutul pulmonar cu care se continuă ( $2^{13} - 2^{15}$ ). Bronhiola terminală reprezintă de obicei a treia generație de bronhiole ( $2^{16}$ ). Are o puternică musculatură al cărui tonus mediu conferă un diametru de 0,2 mm, care, sub acțiune simpato-adrenală, poate crește la 0,5 mm, iar prin constricție, poate produce excluderea totală a teritoriului acinar pe care îl deservește. În interiorul acinului,



bronhiola terminală dă naștere la 2–3 generații de bronhiole respiratorii sau alveolare ( $2^{17} - 2^{19}$ ), prevăzute cu fascicule dispersate de mușchi netezi; nu mai sunt simple canale, ci participă la schimbul gazos prin faptul că prezintă pe alocuri epiteliu alveolar.

Tesutul pulmonar propriu-zis începe cu canalele alveolare, a 20-a generație de ramificații dicotomice. Acestea, cât și următoarele 1–2 generații de canale alveolare ce se mai pot forma, au un diametru egal cu al bronhiolei respiratorii și terminale, comunică prin atriu cu sacul alveolei. La nivelul lor fasciculele de fibre musculare netede au o dispunere de tip sfincterian.

Musculatura netedă a arborelui traheo-bronșic are o funcționalitate influențată de structurile perim musculare, atât în condiții normale cât și, în special, în condiții patologice. Astfel, epiteliul traheo-bronșic nu este numai o barieră fizică cu implicații în clearance-ul mucociliar, ci are rol în modularea tonusului bronhomotor, celulele perim musculare au un rol trofic, rol în apărare și, de asemenea, rol modulator.

Sistemul mucosecretor este reprezentat de epiteliul bronșic și glandele bronșice, dar mixtura reprezentând mucusul este atât producția celulelor mucoase și seroase, cât și a celulelor ciliate, celulelor bazale, alveolocitelor, la care se adaugă transsudatul întregii suprafețe bronhoalveolare. Are un conținut de 95% apă, 2–3% glicoproteine și proteine, 0,1–0,5% proteoglicani și 0,5–1% lipide. În mod normal se produce o cantitate de 10–100 ml/zi mucus, mai intens în căile bronșice mici, scăzând pe măsura deplasării orale, prin resorbția componentei apoase la nivelul microvilozităților celulelor epiteliale ciliate.

Mucusul este un lichid vâsco-elastic ce captează lumenul traheo-bronșic, în grosime de 5–7  $\mu\text{m}$ . Este format din două straturi, fluidul periciliar seros și gelul fibrilo-reticular, vâscos. Acesta din urmă formează un covor rulant de mucus în grosime de 0,5–2  $\mu\text{m}$  ce plutește deasupra fluidului periciliar și este propulsat de mișcarea ciliară. Fluidul seros conține surfactantul – produsul alveolocitelor, ce are în compoziție fosfolipide tensioactive, compuși ai lecitinei (lecitină dipalmitică și palmito-miristică).

Grație surfactantului, tensiunea superficială a peliculei apoase de la suprafața alveolelor este de 20–25 dyne/cm (în loc de 72 dyne/cm, cât are apa), cu variații în raport cu fazele ciclului respirator. În expir, deflația determină micșorarea tensiunii superficiale, împiedicând colabarea alveolelor, ceea ce asigură continuitatea schimbului gazos. În inspir tensiunea superficială atinge 40 dyne/cm, constituind un factor oponent inflației, evitând supradistensia spațiilor aeriene și contribuind în parte la revenirea elastică în cursul deflației.

Surfactantul are rol și în asigurarea lumenului bronhiolar, cât și în menținerea „uscată” a alveolelor. De asemenea, surfactantul dizolvă și neutralizează poluanții gazoși, iar printr-o continuă deplasare orală, asigură „curățirea” alveolelor.



Pe lângă sistemul mucosecretor, la clearance-ul mucociliar participă celulele cilindrice ciliate ale mucoasei traheobronșice (fiecare celulă posedând aproximativ 200 cili) ce asigură transportul ciliar al mucusului. Vibrația ciliară se desfășoară în cuprinsul fazei de sol a mucusului, printr-un mecanism asemănător contracției miofibrilare. O bătaie ciliară are doi timpi, un timp rapid – de contracție și un timp mai lung – de relaxare. Mișcarea ciliară se realizează în valuri metacronale, un șir de cili după altul, în sensul oral.

Ritmul vibrațiilor este reglat de un pacemaker, asumat de cili distali ai unui val metacronal.

Vibrația optimală de 17–27 Hz, se realizează numai în condițiile de grosime și structură adecvată a stratului de mucus, precum și la o temperatură de 35–38°C. În aceste condiții, viteza clearance-ului bronșic, asigurată de covorul mucociliar, este de 0,1–0,4 mm/min în bronhiiolele distale, crește progresiv în bronhii, ca în bronhiile mari să atingă 1,3–5 mm/min, iar în trahee până la 20 mm/min. Astfel că 90% din particulele dispuse pe covorul mucociliar se elimină în decurs de o oră, epurația completă realizându-se în 6–12 ore. Transportul mucociliar ajunge până la urmă în cavitatea buco-faringiană și este eliminat în mod normal pe cale digestivă, prin deglutare sau, în cazuri de hipersecreție bronșică, prin tuse și expectorație.

Tusea facilitează transportul mucociliar, accelerând propulsia covorului de mucus și favorizând expectorarea lui. Tusea eficientă este cu „jumătate forță”. Alterările reflexului de tuse reduc clearance-ul bronhopulmonar.

Optimizarea clearance-ului mucociliar se realizează dependent de acțiunea poluanților, starea mucoasei traheo-bronșice, influențe endocrino-umorale și medicamentoase.

Celulele mucipare seroase secretă sub acțiunea directă a iritanților locali, pe când glandele bronșice secretă sub acțiunea inervației vagale.

Transportul mucociliar este stimulat de substanțele adrenergice (atât  $\alpha$ , cât și  $\beta$ ), aminofiline, digitalice. Factorii ciliodepresori sunt: fumatul,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{O}_3$ , hiperoxia prelungită, uscăciunea excesivă, temperatura sub 5°C și peste 43°C, precum și stările de avitaminoză A, hipotiroidia, excesul de estrogeni. Depresia ciliară se mai consemnează și sub acțiunea alcoolului, anestezicelor, opiaceelor și atropinei.

Agentei infecțioși, bronhopneumopatiile acute și cronice, mucoviscidoza, astmul bronșic, perturbă clearance-ul mucociliar, respectiv cauzează, însoțesc și-l alterează.

Bronhomotricitatea normală este dependentă și de un clearance mucociliar eficace, deoarece poluanții gazoși, particulele de praf anorganice și organice, microorganisme acționează direct sau indirect asupra musculaturii bronhice. Sunt de menționat, în acest sens, efectele protectoare pentru tonusul bronhomotor normal, neutralizarea aerocontaminanților acizi, bacteriostaza și bactericidia (IgA

secretorie, lizozim), inactivarea unor particule antigenice (imunoglobuline, enzime proteolitice, inactivarea proteazelor eliberate de microorganisme și leucocite (antiproteaze,  $\alpha_1$ -antitripsina), inactivarea speciilor reactive ale oxigenului (efecte de scavenger ai compușilor disulfurici ai mucusului, transferina), inactivarea kininelor vasoactive și bronhoconstrictoare (sialomucinele).

Concluzionând, căile aerifere în ansamblu lor, clearance-ul mucociliar, tonusul bronhomotor, fac posibil nu numai transportul optim al aerului la și de la suprafața de schimb alveolară, dar conferă și rolul de barieră față de acțiunile agresive ale unor componenți ai aerului poluat.

## 1.2. Relația căi aerifere – flux aerian

În cadrul suportului structural al respirației pulmonare, sistemului de conducte aerifere ce alcătuiesc căile respiratorii îi revine rolul asigurării tranzitului gazos impus de sistemul mecanic de pompă toraco-pulmonar. Introducerea și evacuarea aerului în procesul ventilației se realizează datorită producerii unor diferențe de presiune dintre atmosferă și plămâni. Gradientul de presiune este determinat de modificările de volum ale spațiului alveolar, produse la rândul lor de variațiile de volum ale cutiei toracice și influențate de rezistența opusă fluxului de aer prin căile respiratorii. Variațiile de volum la rândul lor, sunt posibile grație mușchilor respiratori și elasticității sistemului, forța activă musculară depășind forța pasivă opozantă mișcării. Forța opozantă depinde de trei componente:

- a) componenta statică, pozițională – volumul sistemului
- b) componenta dinamică – de viteză
- c) componenta dinamică – de accelerație.

Aceste forțe opozante sunt generate de proprietățile mecanice ale aparatului respirator, condiționate de particularitățile structurale ale aparatului toraco-pulmonar, la care se adaugă proprietățile mecanice ale aerului vehiculat.

Acestea sunt reprezentate de: elastanța, vâscanța și inertanța.

**Elastanța** are o componentă toracală și o componentă pulmonară. Componenta pulmonară este constituită din țesutul elastic pulmonar și din surfactantul alveolar. Este în funcție de volumul sistemului, variația de volum induce recul elastic (proporțional cu volumul).

**Vâscanța** este datorată rezistențelor prin frecare. Are o componentă tisulară, răspunzătoare de 20% din vâscanță, și o componentă gazoasă, căreia îi revine 80%. Componenta tisulară, structurile neelastice toraco-pulmonare, generează o frecare externă. Componenta gazoasă, trecerea aerului în căile respiratorii, generează frecare internă a moleculelor de gaz între ele și cu pereții canalelor, depinde de viteza variației de volum și a fluxului de aer.



**Inertanța** este generată de rezistențele prin inerția sistemului, care se actualizează la punerea în mișcare, la schimbarea vitezei sau a sensului pompei. Are două componente: tisulară și gazoasă. Componenta tisulară este reprezentată de inerția plămânilor și a peretelui toracic și este neglijabilă la frecvențe respiratorii de până la 100 cicli/minut.

Componenta gazoasă depinde de regimul de curgere turbulentă a aerului, deci în funcție de accelerația debitului, neglijabilă, de asemenea, în condițiile ventilației obișnuite.

Pentru a realiza mișcările ventilatorii, adică a sistemului gaz-plămân-torace, forța musculară trebuie să învingă, pe de o parte, forța opozantă statică – elastică și pe de altă parte, forțele opozante dinamice provocate de forțele de frecare – vâscoase și de inerția sistemului.

O bună parte din forța musculară, pe baza căreia se produce fluxul de aer în căile respiratorii, se adresează rezistenței la flux determinată de forțele de frecare, care cuprinde rezistența la flux a căilor aerifere ( $R_{aw}$ ) și rezistența țesuturilor neelastice.

**Rezistența la flux** se poate exprima, analog legii lui Ohm, ca fiind direct proporțională cu forța musculară care generează gradientul de presiune și invers proporțională cu fluxul aerian.

Rezistența la flux în căile aerifere ( $R_{aw}$ ) se măsoară pe baza gradientului de presiune buco-alveolar și a debitului de aer vehiculat sub acțiunea forțelor musculare puse în joc. Randamentul transportului de aer se apreciază pe baza pierderii de energie mecanică, respectiv a pierderii de presiune dintre capătul bucal și alveolar al căii respiratorii, deoarece frecarea dintre moleculele de gaz și dintre aer și conducte consumă o parte din energia mecanică furnizată de contracția mușchilor respiratori.

În ventilația de repaus,  $R_{aw}$  constituie 80% din rezistența totală la flux, fiind dependentă de factorii somatometrici, vârstă, amplitudinea respirației, geometria căilor aerifere, faza ciclului respirator (inspir-expir), mărimea fluxului de aer și în mod special regimul de curgere al aerului.

În căile respiratorii regimul de curgere al aerului poate îmbrăca trei aspecte: laminar, turbulent și curgere în condiții de intrare.

Regimul de curgere laminară se desfășoară în virtutea legii Hagen–Poiseuille, până la atingerea vitezei critice. În acest caz rezistența opusă la curgerea aerului este direct proporțională cu coeficientul de vâscozitate al aerului și cu lungimea tubului și invers proporțională cu puterea a patra a razei tubului. Astfel că variațiile diametrului căilor respiratorii constituie un factor principal al rezistenței la flux, scăderea diametrului implicând creșterea exponențială a presiunii și deci a travaliului ventilator, în vederea menținerii aceluiași flux.

Regimul de curgere turbulentă fiind dependent de viteză și, ca atare, direct proporțional cu gradientul de presiune și rază, se poate întâlni numai în căile

respiratorii mari. Astfel că, în ventilația de repaus curgerea turbulentă este prezentă numai la nivelul laringelui, creșterea ventilației inducând apariția acesteia și în trahee și bronhiile mari.

Bifurcarea continuă a căilor bronșice adoptă o formă aparte a fluxului aerian – regim de curgere în condiții de intrare, prin faptul că profilul vitezelor se modifică la fiecare bifurcare (straturile centrale devenind periferice). Regimul de curgere în condiții de intrare este cauza unui consum considerabil de energie mecanică suplimentară ce determină pierdere de presiune, cam de aceeași valoare ca și în regimul de curgere turbulent.

Rezistența la flux în căile aerifere se distribuie astfel:

- pe traseul gură-laringe-trahee: 40%
- pe traseul bronhii-bronhiole: 50%
- pe traseul ultimelor conducte: 10%.

Cea mai mare parte din  $R_{aw}$  are loc pe traseul laringe-trahee și bronhii mari, procesele stenozante la acest nivel determină o pronunțată creștere a ei, în schimb o îngustare moderată a căilor aerifere periferice nu o modifică semnificativ.

Diametrul căilor aerifere variază proporțional cu volumul plămânului, variație mai marcată în bronhiile mari. Ca atare  $R_{aw}$  va prezenta variații invers proporționale cu volumul pulmonar, crescând la volume pulmonare mici și scăzând la volume mari. Aceasta se explică prin tracțiunile exercitate de componentele elastice pulmonare asupra bronhiilor și bronhiolelor; creșterea volumului făcând să crească tracțiunea, crește diametrul, iar micșorarea volumului scăzând tracțiunea, reduce diametrul conductelor și crește rezistența. Ca atare, în expir, cu cât acesta este mai profund, cu atât rezistența crește.

Aerul circulă în căile respiratorii sub presiune, realizând în bronhii presiunea intrabronșică. Din afara lor se exercită o presiune peribronșică dependentă în final de valoarea presiunii pleurale. Diferența dintre presiunea ce se exercită din interior asupra pereților conductelor și presiunea aplicată din exterior asupra lor, se numește presiune transmurală.

În condiții statice, presiunea transmurală este pozitivă și, de aceea, conductele aerifere tind să-și mărească volumul cu atât mai mult, cu cât plămânii sunt mai umpluți cu aer. În inspir tendința la dilatare crește. În expirul forțat calibrul conductelor aerifere suferă variații după cum presiunea intrabronșică este mai mare sau mai mică decât presiunea pleurală.

Punctul la care presiunea intrabronșică și pleurală sunt egale se numește punctul de presiuni egale (PPE). PPE împarte conductele aerifere în două segmente:

- a) un segment dilatabil, periferic, de la alveole la PPE și
- b) un segment comprimabil, central, de la PPE la trahee.





La volume pulmonare mari, peste 75% din capacitatea vitală, PPE este situat în trahee, deci debitul crește proporțional cu presiunea pleurală. Pe măsură ce volumul pulmonar diminuează cu expirația, PPE coboară și se plasează la nivelul bronhiilor subsegmentare, cu atât mai jos cu cât reculul elastic pulmonar este mai mic.

Recul elastic pulmonar menține presiunea pleurală și peribronșică la o valoare inferioară presiunii alveolare, opunându-se colabării segmentului situat distal de PPE. Segmentul central (deasupra PPE) este comprimat de presiunea pleurală, ca atare bronhiiolele fiind lipsite de cartilaj, colabează când presiunea transmurală coboară sub o valoare critică, între 0 și - 0,2 kPa. Deci la volumele pulmonare mici, sub 75% din capacitatea vitală, fluxul aerian nu mai este proporțional cu presiunea pleurală și forța musculară, ci depinde numai de mărimea reculului elastic. Volumul pulmonar la care, în cursul unei expirații complete, începe să colabeze căile respiratorii mici este denumit volum de închidere a căilor aerifere (*closing volume*). La tânărul sănătos, cu recul elastic normal, volumul de închidere este aproape de volumul rezidual. Pe măsură ce se înaintează în vârstă, scăderea reculului elastic face ca volumul de închidere să se apropie din ce în ce mai mult de capacitatea reziduală funcțională.

Musculatura netedă bronșică are un rol important în optimizarea fluxului aerian prin căile bronșice. Astfel, creșterea tonusului bronhomotor în expir participă la menținerea lumenului bronhiolar la volume pulmonare mici. Disfuncția manifestată prin relaxarea respiratorie a musculaturii bronhice, micșorând tracțiunea radială exercitată asupra pereților bronșici, în special ai celor lipsiți de suport cartilaginos, contribuie la îngustarea lumenului lor și la atingerea mai rapidă a volumului de închidere.

La celălalt pol se situează bronhospasmul, care crește considerabil rezistența la flux, mai ales în expirația forțată. Acest aspect este ilustrat convingător de traviul ventilator, respectiv de costul ventilației. Se știe că traviul ventilator crește cu debitul ventilator în progresie geometrică, în special datorată rezistenței la flux.

Astfel că, dacă în condiții de repaus costul de  $O_2$  reprezintă 0,5 ml pentru un litru de aer ventilat, în efortul intens atinge și poate depăși de zece ori această valoare. În criza de astm bronșic, traviul ventilator, respectiv costul de oxigen al ventilației, chiar la niveluri ventilatorii foarte joase, atinge valori echivalente cu cele necesare unui efort intens.

## BIBLIOGRAFIE

1. SCHNEIDER F., BUDIU T., (1965) – *Considerații asupra fiziologiei respirației externe la copii. Valoarea spirometriei. Activitatea științifică*, Institutul de medicină Timișoara, 136–137.
2. SCHNEIDER F., NEAGOE D., (1965) – *Respirația – elemente de fiziologie specială*. Institutul de medicină Timișoara.

3. MÎRZA A., SCHNEIDER F., TULEA E., (1965) – *Contribuții la studiul reglării ventilației pulmonare: rolul mediatorilor chimici*. St. cerc. fiziol., 10/6: 559–567.
4. MÎRZA A., SCHNEIDER F., TULEA E., (1966) – *Contribuții la studiul reglării chimice a ventilației pulmonare: rolul ionilor K, Na și Ca*. St. cerc. fiziol., 11/1: 45–50.
5. PĂUNESCU-PODEANU A., ZOSIN P., SCHNEIDER F., (1966) – *Tulburările cerebrale din cordul pulmonar cronic. Confruntări clinice, hemodinamice, ventilatorii, biochimice*. Volum omagial Ion Enescu, Ed. Acad. R.S.R., 243–250.
6. SCHNEIDER F., NEAGOE D., (1972) – *Limitele spirometriei în explorarea respiratorie*. Timișoara medicală, 17/1: 44–49.
7. SCHNEIDER F., BIROAȘIU I., (1972) – *Considerații asupra disfuncției ventilatorii în silicoză*. Viața medicală, 19/8: 353–355.
8. NEAGOE D., SCHNEIDER F., (1977) – *Corelațiile ventilometriei cu deficitul alfa-1-antitripsină în bronhopneumopatiile supurative cronice*. Pneumoftiziologie, 26/1: 55–58.
9. MIHALAȘ G., BANDU-SCHNEIDER L., DINU I., PETROIU A., ALSTER A., SCHNEIDER F., (1985) – *Studiul ventilometric al reactivității beta-receptorilor la astmatici*. Simpozion de farmacodinamie, Timișoara, 221–225.
10. SCHNEIDER F., PETROIU A., MIHALAȘ G., ȘTEFĂNIGĂ P., (1985) – *Fiziologia respirației*. Institutul de medicină Timișoara.
11. MUNTA A., GOȚIA S., SCHNEIDER F., (1987) – *Aspects of tonus modulation in guinea pig tracheal muscle*. Rev. roum. Physiol., 24/2: 115–118.
12. MIHALAȘ G., SCHNEIDER F., PETROIU A., MIHALAȘ G. I., (1989) – *Computer techniques in bronhomotricity functional investigation and experimental research*. Timișoara medicală, 34-supl.: 47–50.
13. SCHNEIDER F., PETROIU A., MIHALAȘ G., DRAGOMIR A., MĂȚIEȘ R., (1991) – *Acțiunea Nifedipinei asupra contracției induse de acetilcolină pe spirala de trahee de cobai*. Fiziologia–Physiology, 1/1: 17–20.
14. OPREA T. I., (1992) – *Studii teoretice și experimentale asupra  $\beta$ -adrenoreceptorului din sistemul respirator*. Teză de doctorat, UMF Timișoara (Conducător științific: F. Schneider).
15. PETROIU A., MIHALAȘ G., COSTE O., SCHNEIDER F., (1993) – *Model experimental pentru studiul motricității musculaturii netede a căilor aerifere*. Cercetări experimentale medico-chirurgicale, 1/1: 35–38.
16. PETROIU A., MIHALAȘ G., SCHNEIDER F., (1993) – *Experimental studies concerning nifedipine action on histamine induced contraction of guinea pig tracheal spiral*. Fiziologia – Physiology, 3/1–2: 35–42.
17. MIHALAȘ G., PETROIU A., SISKĂ I., TĂNASIE G., MEDERLE C., BUNU C., SCHNEIDER F., (1993) – *Experimental studies on human bronchial smooth muscle in vitro*. Romanian Journal of Physiology, 30/3–4: 161–166.
18. MIHALAȘ G., (1993) – *Cercetări experimentale și clinice privind implicațiile calciului și a blocantelor canalelor de calciu în reglarea bronhomotricității*. Teză de doctorat, UMF Timișoara (Conducător științific: F. Schneider).
19. BUNU C., BILȚIU D., MIHALAȘ G., TUDORACHE V. M., SCHNEIDER F., (1994) – *Rezistența la flux a căilor traheo-bronșice – metoda optimă de investigare a eficienței tranzitului aerian*. Cercetări experimentale medico-chirurgicale, 1/4: 45–50.



20. MIHALAŞ G., PETROIU A., MEDERLE C., MIHALAŞ G. I., SCHNEIDER F., (1994) – *Modelling of neuromodulation in airways*. Fiziologia-Physiology, 4/1–2:45–49.
21. PETROIU A., MIHALAŞ G., SCHNEIDER F., SISKI I., TĂNASIE G., (1994) – *Comparative effect of nifedipine and verapamil on histamine induced contraction of tracheal smooth muscle*. Fiziologia-Physiology, 4/3–4: 29–35.
22. SCHNEIDER F., BUNU C., BILȚIU D., TUDORACHE V. M., TĂNASIE G., BOGDAN M., (1995) – *Airway resistance measurement use in monitoring tracheo-bronchial responsiveness*. Fiziologia-Physiology, 5/1–2 (7): 6–12.
23. BUNU C., SCHNEIDER F., PĂUNESCU V., TUDORACHE V. M., VANCEA D., (1995) – *Effects of corticosteroids on the recruitment and function of bronchoalveolar lavage cells in asthmatic patients*. Fiziologia-Physiology, 5/1–2(7): 13–16.
24. PETROIU A., MEDERLE C., TĂNASIE G., SCHNEIDER F., (1995) – *Ethanol effects on guinea pig tracheal smooth muscle*. Fiziologia-Physiology, 5/1–2 (7): 17–20.
25. MIHALAŞ G., PETROIU A., SCHNEIDER F., TUDORAN M., MIHALAŞ G. I., (1995) – *Nifedipine effects on bronchomotor responsiveness in single doses*. Fiziologia-Physiology, 5/1–2 (7): 21–24.
26. MEDERLE C., SCHNEIDER F., (1995) – *The constrictor effect of acetylcholine by enhanced hydrogen peroxide in guinea pig isolated tracheal muscle*. Fiziologia-Physiology, 5/1–2 (7): 25–26.
27. TĂNASIE G., SISKI I., MEDERLE C., PETROIU A., MIHALAŞ G., SCHNEIDER F., (1995) – *Nifedipine effect on acetylcholine induced contraction of human bronchial smooth muscle*. Fiziologia-Physiology, 5/1–2 (7): 27–30.
28. BUNU C., SCHNEIDER F., PĂUNESCU V., TUDORACHE V. M., VANCEA D., (1996) – *The variation of integrin expression on the leukocytes subpopulations in asthmatic patients*. Fiziologia-Physiology, 6/1 (9): 8–11.
29. SCHNEIDER F., BUNU C., TĂNASIE G., MEDERLE C., PĂUNESCU V., (1996) – *Human bronchial responsiveness. Local mechanism of modulation*. Fiziologia-Physiology, 6/3 (11): 7–13.
30. PETROIU A., SISKI I., MEDERLE C., TĂNASIE G., (1996) – *Experimental research on calcium channels blockers and bronchoconstrictor agents association*. Fiziologia-Physiology, 6/3 (11): 20–27.
31. BUNU C., MIHALAŞ G., (1996) – *Ventilometric tests and raw evaluations*. Fiziologia-Physiology, 6/3 (11): 31–34.
32. SISKI I., CRĂSNIC D., SCHNEIDER F., (1996) – *Endothelins: sources, receptors and roles in the respiratory system, possible implications in some respiratory disorders*. Fiziologia-Physiology, 6/4 (12): 3–9.
33. SCHNEIDER F., SISKI I., TĂNASIE G., CRĂSNIC D., (1996) – *Rolul factorilor derivați din endoteliu în modularea tonusului bronhomotor*. *Timișoara medicală* 41/3–4: 5–12.
34. PETROIU A., SISKI I., TĂNASIE G., MIHALAŞ G., SCHNEIDER F., (1997) – *In vitro experiments concerning ethanol effects on guinea pig tracheal smooth muscle*. Fiziologia-Physiology, 7/2 (14): 21–26.
35. SISKI I., BUNU C., TĂNASIE G., CRĂSNIC D., LAZĂR D., SCHNEIDER F., (1997) – *The effect on inhaled salmeterol on exercise-induced bronchoconstriction*. Fiziologia-Physiology, 7/4 (16): 11–19.

## 2. PARTICULARITĂȚI FUNCȚIONALE ALE MUSCULATURII NETEDE TRAHEO-BRONȘICE

Structura căilor respiratorii traheo-bronșice include posibilitatea variației de calibru în vederea optimizării fluxului aerian.

La nivelul traheei arcul cartilaginos prezintă la extremități, pe pericondrul intern și în interiorul membranei fibroase adiacente, inserția fasciculelor de fibre musculare ce formează mușchiul *transversus tracheae*. Când se contractă, mușchiul apropie extremitățile arcului și, în același timp, tensionează mucoasa suprajacentă.

Bronhiile de ordinul unu prezintă fasciculele musculare dispuse ca la trahee. Următoarele generații de bronhii au tunica musculară în interiorul tunicii fibroase, formată din fascicule dispuse circular sau spiralat continuu.

Bronhiiolele prezintă mușchii lui Reisseissen bine reprezentanți față de calibrul lor.

Conductele intraacinare au fibrele musculare cu dispunere sfincteriană iar, pe lângă acestea, se mai întâlnesc rare fibre musculare dispersate în septurile interalveolare și alveoloductale.

Toate aceste formațiuni musculare sunt reprezentate de fibre musculare netede cu caracteristici generale comune cu alte fibre musculare netede de tip unitar, dar și cu particularități ce rezultă, în special, din responsivitatea lor specifică față de substanțele biologic active, endo- și exogene.

### 2.1. Structura funcțională a fibrei musculare netede a căilor respiratorii

Fibrele musculare netede au un aspect fusiform, cu lungimea de 0,5 mm și diametrul de 5–50  $\mu\text{m}$ . Conțin nucleul situat central, un aparat Golgi în vecinătatea nucleului, iar la periferie aparatul contractil: miofilamente și corpii denși.



Cantitativ, mitocondriile sunt slab reprezentate și permit o producție scăzută de ATP, de numai 10% din producția fibrelor musculare striate. În homeostazia calciului, rolul mitocondriilor este minor în condiții fiziologice.

Reticolul sarcoplasmatic este puțin dezvoltat și reprezintă 2–5% din volumul celular total. Cu toate acestea joacă un rol important în stocarea și eliberarea ionilor de  $\text{Ca}^{2+}$ .

Filamentele de actină și miozină nu au un aranjament în discuri și datorită acestui fapt nu prezintă striatii în microscopia optică. Conținutul de actină și tropomiozină este de două ori mai crescut, iar cel de miozină de patru-cinci ori mai scăzut în comparație cu fibrele musculare striate și, în consecință, un filament de miozină este înconjurat de 10–15 filamente de actină.

Sarcolema fibrelor musculare netede nu prezintă tubi T, dar la nivelul ei se pot deosebi zone de specializare morfo-funcțională, care nu sunt prezente la fibrele musculaturii scheletice: caveolele și joncțiunile intercelulare.

Caveolele sunt dispuse în șiruri paralele cu axul longitudinal al fibrei și pătrund foarte puțin în adâncimea fibrei. Ele ar fi implicate în homeostazia intracelulară a calciului (POPESCU L. M., 1987). Prin prezența lor, suprafața este crescută. Sunt prelungiri ale spațiului extracelular în interiorul fibrei musculare netede.

Corpii denși sunt formațiuni ultrastructurale specifice fibrelor musculare netede. Apar distribuiți relativ dezordonat printre miofilamente și conțin alfa-actina și, posibil, filamina, formațiuni citoplasmatiche de ancorare a filamentelor de actină (POPESCU L. M., 1987). Par a delimita „minisarcomere” analoage sarcomerelor mușchiului striat (MARTHAN R., 1994).

În arhitectura țesutului muscular neted, elementul specific este fasciculul, format din 20 – 100 fibre musculare cu orientare similară. Între fibrele musculare există cel puțin trei tipuri de joncțiuni intercelulare: ● joncțiuni comunicante (*gap-junction*) – 1% din suprafața fibrei musculare netede; sunt căi intercelulare de rezistență scăzută, ceea ce asigură trecerea rapidă a semnalului electric de la o celulă la alta; de asemenea, permit trecerea unor ioni și molecule mici ● joncțiuni intermediare, cu rol de solidarizare intercelulară, semnificație funcțională mecanică, cât și apoziții prin proiecții digitiforme. Datorită lor, până la aplicarea microscopiei electronice s-a crezut că mușchiul neted ar fi un sincițiu ● joncțiuni strânse, ce permit un cuplaj electric între celule, au o densitate relativ mare la nivelul musculaturii traheale, pentru ca apoi să scadă progresiv în bronhii, iar după bronhiile de a patra generație, să dispară (DANIEL E. E., 1986). Prezența unui număr scăzut de joncțiuni strânse este caracteristică fibrelor musculare netede bronșice din căile respiratorii cu normo-responsivitate.

Din punct de vedere funcțional, anumite componente biochimice din structura sarcolemei servesc ca suport molecular al mecanismului de transducție membranară a mesajelor extracelulare. Astfel, fosfoinozitidele generează metaboliți

cu rol de mesageri secunzi intracelulari, iar proteinele membranare sunt implicate în transducția membranară ca receptori, canale ionice, enzime cu rol în metabolismul fosfoinozitudelor sau pompe ionice.

Potențialul de membrană al celulelor mușchiului neted din căile respiratorii este între -45 – -160 mV (SMALL R. C., 1988) și nu prezintă oscilații spontane. Un aspect caracteristic este tendința remarcabilă a membranei pentru rectificarea electrică ce urmează unui stimul depolarizant. Acest aspect rectifcator s-ar datora deschiderii canalelor de potasiu voltaj-dependente de înaltă conductanță, activate de calciu.

## 2.2. Proteinele contractile și reglatoare ale fibrei musculare netede traheo-bronșice

Componentele proteice ale elementelor contractile, cât și cele reglatoare sunt similare cu cele existente în alți mușchi netezi și ele includ: miozina, actina, tropomioniza, caldesmona, calponina, calmodulina, kinaza lanțului ușor miozinic și fosfatazele proteice.

### 2.2.1. Miozina

Miozina musculaturii netede a căilor aerifere este o moleculă hexamerică formată din două lanțuri grele de 200 kDa, două lanțuri ușoare de 20 kDa și două lanțuri ușoare de 17 kDa. Molecula este compusă dintr-o regiune coadă, cuprinsă în filamentul gros și o regiune cap globular (subfragment S), ce conține domeniul ce leagă actina și locul catalitic pentru hidroliza ATP. Subunitățile reprezentate de lanțuri ușoare se găsesc în dreptul colateralelor lanțului miozinic.

Lanțul ușor de miozină de 20 kDa reprezintă substratul de acțiune al kinazei lanțului ușor miozinic (MLCK). Fosforilarea lanțului ușor de 20 kDa de către MLCK  $\text{Ca}^{2+}$  calmodulin dependentă ar fi mecanismul dominant al activării Mg-ATP-azei miozinice. De asemenea, fosforilarea lanțului ușor afectează starea conformațională a miozinei, adică promovează tranziția din conformația îndoită la conformația extinsă a miozinei, care este astfel capabilă să se asambleze în miofilamente.

În mușchiul neted traheal de bovine, forța este liniară cu fosforilarea acestui lanț ușor (KAMM K. E., 1989 b).

Lanțurile grele miozinice pot fi fosforilate *in vitro* de către proteinkinaza C și de calmodulinkinaza activată (HATHAWAY D. R., 1989). Fosforilarea lanțului greu apare în cultura de celule musculare netede traheale, stimulate cu ionomycină sau cu forbol-dibutyrat. Probabil că ionomycina crește  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular cu activarea calmodulinkinazei, iar dibutiratul activează proteinkinaza C. Totuși, în musculatura netedă traheală intactă, condițiile care promovează contracția (carbacol), nu induc nici o modificare în fosforilarea lanțului greu (KAMM K. E., 1989 a), deci aceasta



poate fi importantă în proliferarea celulelor, dar nu în reglarea contracției musculaturii netede a căilor respiratorii.

### 2.2.2. Myosin-Light-Chain-Kinase (MLCK)

Activitatea MLCK este esențială pentru activarea interacțiunii actomiozinice. Reacția de fosfotransferare este specifică pentru lanțurile ușoare de miozină de 20 kDa ( $LC_{20}$ ), fosforilarea altor substraturi fiind mult mai lentă (KAMM K. E., 1987).

MLCK provenită din musculatura traheală de bovine, a fost purificată și studiată în detaliu de Stull și colab. Silver și Stull (1984) au găsit că o creștere rapidă și marcată a fosforilării lanțului ușor  $LC_{20}$  nu poate fi un mecanism de fosforilare secvențial sau negativ cooperativ. Kamm și Stull au demonstrat că stimularea electrică a mușchiului neted traheal de bovine, determină o contracție mediată nervos prin activarea aproape sincronă a celulelor musculaturii netede. Latența de 500 ms se datorează timpului necesar de la eliberarea acetilcolinei la creșterea concentrației  $Ca^{2+}$  citoplasmatic și activarea kinazei (0,04 – 0,8 mol fosfat/mol lanț ușor). Activitatea ei este dependentă de  $Ca^{2+}$ , iar sensibilitatea la calciu este mediată de calmodulină. Concentrația sa variază între 1 și 4  $\mu M$ . MLCK prezintă cel puțin două locuri de fosforilare notate A și B (STULL J. T., 1993). Locul A este mai important și corespunde situsului de legare al calmodulinei. Fosforilarea acestuia desensibilizează MLCK la  $Ca^{2+}$  și deci crește cantitatea de  $Ca^{2+}$  necesară activării. Studii *in vitro* arată că trei enzime sunt responsabile de fosforilare la acest nivel: proteinkinaza C, proteinkinaza dependentă de AMPc și calmodulinkinaza II (CaM-PK II). *In vivo* CaM-PK II are rol major în reglarea fosforilării miozinei. Aceste date sugerează că nici MLCK și nici concentrația de calmodulină nu reprezintă factori limitativi ai contracției și că inițierea contracției este realizată de modificările  $Ca^{2+}$  intracelular (GERTHOFFER W. T., 1991).

MLCK poate fi fosforilată și astfel activitatea ei este redusă în musculatura intactă. Deci activitatea MLCK nu este controlată în mod singular de  $Ca^{2+}$  intracelular via calmodulină. Mediatorii relaxării căilor aerifere pot modifica starea de fosforilare a MLCK prin reglarea unor fosfoproteinfosfataze.

### 2.2.3. Actina și proteinele filamentului subțire

Actina, componentul major al filamentelor subțiri, este o proteină globulară (G-actina) de 42 kDa, existând în diferite izoforme care, în condiții fiziologice, polimerizează în filamente (F-actina). Distribuția izoformelor ( $\alpha$  și  $\gamma$  în mușchiul neted și  $\beta$  și  $\gamma$  – actina nemusculară) este specifică pentru diferite tipuri de mușchi neted. În plus, cam 30% din actină există ca G-actină monomer, un echilibru dinamic între actina G și F poate fi important nu numai pentru motilitatea nemusculară, ci și pentru contracția mușchiului neted. Au fost descrise, deja,



câteva proteine care participă, probabil, la asamblarea și remodelarea filamentelor actinice contractile și citoscheletale (ISHIKAWA R., 1989).

Există, de asemenea, descrise proteine, cum ar fi filamina și desmina, care mențin structura și integritatea mecanică a filamentelor de actină. În musculatura netedă sunt mult mai multe filamente subțiri de actină în raport cu filamentele groase de miozină (8/1, 12/1), față de mușchiul striat (2/1).

**Tropomiozina** este o proteină reglatoare a filamentului subțire care există în două forme izomere. Este compusă din două subunități de 33 kDa ce formează o structură secundară în alfa helix în jurul actinei. Legătura acto-miozinică poate fi puternică sau slabă. În prima situație tropomiozina crește activitatea ATP-azică a miozinei indusă prin actină, în a doua, o inhibă. Raportul molar actină/tropomiozină este de șapte monomeri de actină G la o moleculă de tropomiozină. Tropomiozina potențializează activarea prin actină a Mg-ATP-azei. Studii recente arată că joacă un rol esențial în activitatea reglatoare a caldesmonei.

**Caldesmona și calponina** sunt proteine asociate cu filamente subțiri de actină, cu roluri importante în contracția mușchiului neted (GERTHOFFER W. T., 1991).

Caldesmona, descrisă în 1981 de Kakinki și col., este o proteină abundentă în mușchiul neted. Caldesmona este o moleculă elongată, localizată numai în domeniul actină-miozină. Atât caldesmona, cât și calponina sunt prezente în musculatura netedă a căilor respiratorii (POHL J., 1991).

Caldesmona inhibă actomiozin ATP-aza (DE LANEROLLE P., 1991), iar această acțiune poate fi redusă prin fosforilarea caldesmonei de către calmodulinkinaza II. În absența  $\text{Ca}^{2+}$ , caldesmona se leagă de actina (1 CaD pentru 28 monomeri de actină), inhibând interacțiunea actină-miozină (WALSH M. P., 1987). Când  $\text{Ca}^{2+}$  crește de la 0,1 la 10  $\mu\text{M}$ , calmodulina se fixează de caldesmonă și înlătură efectul inhibitor al caldesmonei. Dar, înainte de legarea de calmodulină, caldesmona trebuie să fie fosforilată de o manieră calmodulin dependentă. Caldesmona nu pare să inhibe interacțiunea actină-miozină într-o simplă manieră „on-off” (DE LANEROLLE P., 1991). În plus, legarea sa posibilă în același timp de miozină și actină, ar putea juca un rol structural în organizarea tridimensională a filamentelor contractile necesară dezvoltării contracției. Rolul potențial al caldesmonei în reglarea mecanismului „cross-bridge” constituie astăzi un subiect viu disputat.

Calponina este o altă proteină ce se leagă de actină, tropomiozină și de calmodulină, fiind similară troponinei T cardiace. Se găsește exclusiv în mușchiul neted (WINDER S. J., 1993). Este o fosfoproteină care reprezintă substratul de acțiune al calmodulinkinazei II și al proteinkinazei C. Calponina, o proteină  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin dependentă, inhibă activitatea ATP-azei actomiozinice, fără a acționa asupra fosforilării miozinei. În plus, ea împiedică glisarea filamentelor de actină de-a lungul capetelor miozinei, crescând fixarea actinei de miozină.



Calponina induce, de asemenea, schimbări conformaționale ale moleculei de actină F. Fosforilarea calponinei reduce fixarea sa de actină și înlătură efectul său inhibitor asupra actomiozin ATP-azei *in vitro*. Defosforilarea, printr-o fosfatază de tip 2A, reface acțiunea sa.

#### 2.2.4. Calmodulina

Proteină reglatoare cu greutate moleculară mică, de 17 kDa, este constituită dintr-un lanț de 148 aminoacizi. Calmodulina este prezentă la toate eucariotele, în toate țesuturile (NECHIFOR M., 1985). Face parte din familia de calcioproteine care rezultă dintr-o dublă duplicație de gene dintr-un substrat comun de 36 aminoacizi (60% omologie cu troponina C).

Calmodulina este un lanț polipeptidic constituit din patru domenii denumite de la N terminal: I, II, III și IV. Fiecare din aceste domenii conține 12 aminoacizi formând o buclă și fixează un ion de  $\text{Ca}^{2+}$ . Absența cisteinei și hidroxiprolinei dă calmodulinei o structură terțiară flexibilă, care are avantaj în interacționarea cu proteinele receptoare.

Această proteină leagă cu foarte mare afinitate 4 moli de  $\text{Ca}^{2+}$  per mol de calmodulină. Studii recente arată că fiecare din situsurile de legătură au o afinitate diferită și confirmă că ele nu sunt independente. Secvența de fixare se face în ordinea următoare: domeniul III, pe urmă IV, apoi II și, în fine, I. Legarea calciului este diminuată în prezența cationilor monovalenți sau  $\text{Mg}^{2+}$ .

Când concentrația  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular crește, calmodulina fixează  $4\text{Ca}^{2+}$ , își schimbă conformația și interacționează cu proteinele țintă (LUGNIER C., 1991).

Calmodulina poate fi reprezentată ca un adevărat receptor intracelular al  $\text{Ca}^{2+}$ . La concentrații între 0,1 și 10  $\mu\text{M}$  ale  $\text{Ca}^{2+}$ , activează MLCK și interacționează cu caldesmona, permițând, pe de o parte fosforilarea miozinei și, pe de altă parte interacțiunea actină-miozină. Aceste două procese conduc la contracția mușchiului neted.

Calmodulina activează, de asemenea, enzimele implicate în reglarea nucleotidelor ciclice: adenilatciclaza care sintetizează AMPc și fosfodiesteraza dependentă de calmodulina care hidrolizează AMPc. Fosforilarea și defosforilarea proteinelor celulare joacă un rol esențial în reversibilitatea răspunsului fiziologic.

Aceste procese, în parte dependente de nucleotidele ciclice, sunt egal și sub dependența calmodulinei, prin intermediul calmodulin kinazelor pentru fosforilare.

### 2.3. Reglarea elementelor contractile ale fibrei musculare netede traheo-bronșice

Mecanismul contractil al celulelor mușchiului neted, constând din interacțiunea filamentelor de actină și miozină, este inhibat când concentrația  $\text{Ca}^{2+}$  din jurul miofilamentelor este de 0,1  $\mu\text{M}$ . Celula prezintă capacitatea de menținere a

homeostaziei calciului, care se manifestă la mai multe niveluri (AKERMAN K. E. D., 1982). În repaus, canalele fiind închise, acționează ca o barieră, prevenind pătrunderea în celulă a  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular. În timpul potențialului de acțiune, influxul este pasiv, deoarece există un mare gradient de concentrație și un gradient electric care dirijează  $\text{Ca}^{2+}$  în celulă.

Forța reală este așa-numitul potențial de dirijare, care este diferența între potențialul de echilibru al  $\text{Ca}^{2+}$  și potențialul real de membrană. Canalele de  $\text{Ca}^{2+}$  restricționează influxul  $\text{Ca}^{2+}$  permițând intrarea unei cantități mici de calciu. Această cantitate de  $\text{Ca}^{2+}$  depinde de potențialul de dirijare al  $\text{Ca}^{2+}$ , de numărul de canale de  $\text{Ca}^{2+}$  disponibile și de timpul lor în starea deschisă.

În controlul  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular în fibra musculară sunt implicate două sisteme membranare:

**Plasmalema**, care este sub controlul potențialului de membrană și al agoniștilor, ca neurotransmițători, hormoni;

**Reticulul sarcoplasmatic**, care este sub controlul mesagerilor secundari.

**Plasmalema.** În reglarea permeabilității plasmalemei pentru  $\text{Ca}^{2+}$  intervin mai multe mecanisme, în funcție de tipul de transport activ sau pasiv:

- a. Influxul de  $\text{Ca}^{2+}$  prin canalele de  $\text{Ca}^{2+}$  voltaj dependente.
- b. Influxul prin canalele de  $\text{Ca}^{2+}$  operate de receptori. Uneori, agoniștii ce acționează asupra receptorilor inhibă și pompa de expulzie a  $\text{Ca}^{2+}$ .
- c. Pompele ionice electrogenice:
  - activarea pompei de  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ , ce hiperpolarizează membrana;
  - schimbul bidirecțional de  $3\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ;
  - pompa de  $\text{Ca}^{2+}$  legată de o ATP-ază sarcolemală; se adaugă fosforilarea pompei de  $\text{Ca}^{2+}$  dependentă de AMPc, de proteinkinaza C, având ca efect creșterea eficienței sau capacității sale;
- d. O varietate de ionofori poate determina deplasarea selectivă a  $\text{Ca}^{2+}$  de-a lungul gradientului de concentrație direct prin sarcolemă, nu prin canalele lente (MARTHAN R., 1988) (fig. 2/1).

O serie de mecanisme cresc eficiența, respectiv capacitatea mecanismelor efluxului de  $\text{Ca}^{2+}$  la nivelul plasmalemei când crește  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, astfel încât concentrația rămâne constantă în mod normal (AKERMAN K. E. D., 1982; BRAUNWALD E., 1982; BREEMEN C., 1989).

### 2.3.1. Influxul de $\text{Ca}^{2+}$ prin canalele de $\text{Ca}^{2+}$ ale membranei celulare

Canalele de  $\text{Ca}^{2+}$  sunt grupate în canale de calciu reglate de potențialul transmembranar și canale de calciu controlate prin ocuparea unui receptor asociat canalului de către un agonist (DOYLE A. C., 1988; BREEMEN C., 1989; BRUCE P. B., 1989; COBURN R. F., 1990; PETROIU A., 1991).



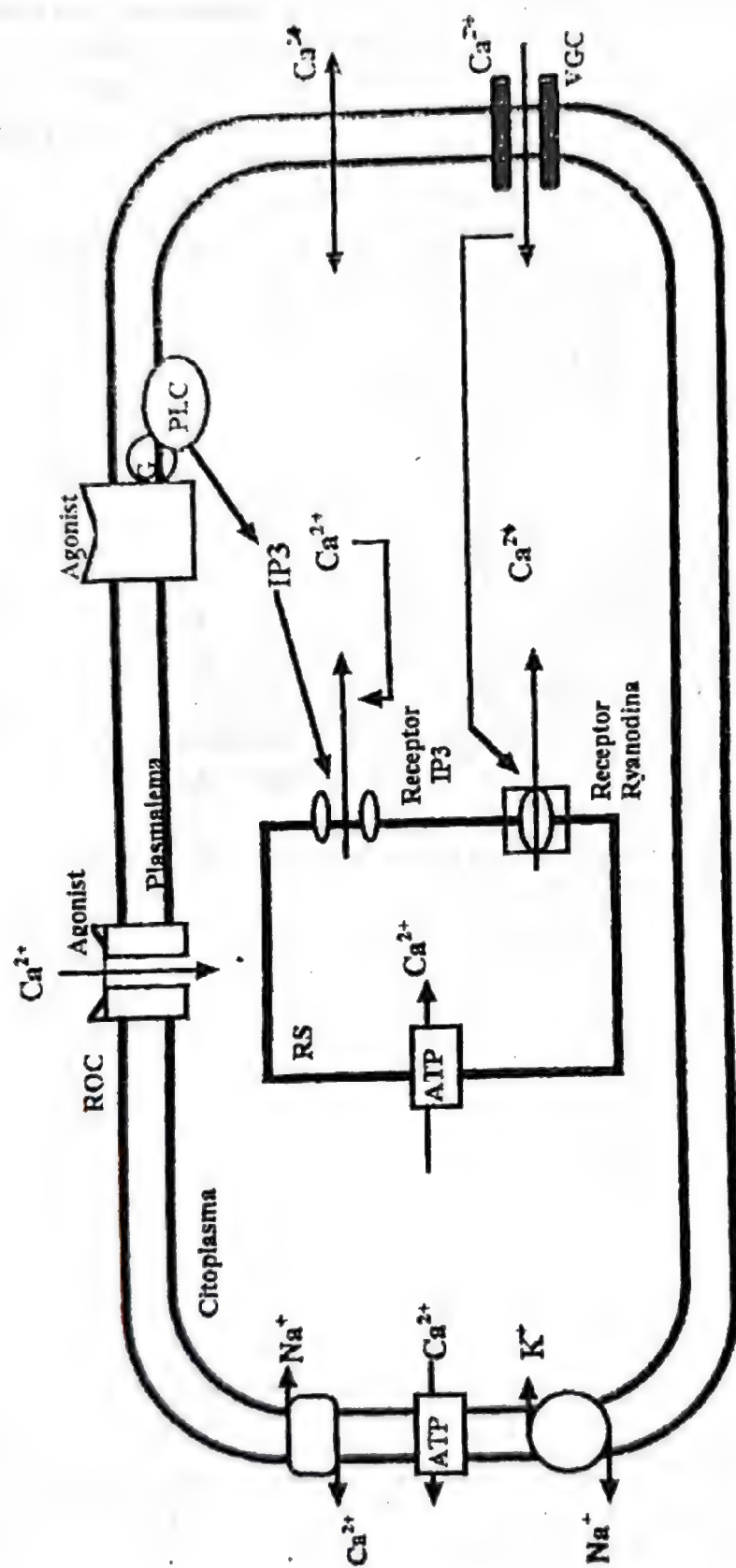


Fig. 2/1 – Mecanisme de control ale concentrației  $\text{Ca}^{2+}$  Intracelular

**I. Canalele de calciu voltaj dependente** (*voltage gated  $Ca^{2+}$  – channels – VGC*). Există o mare varietate funcțională a acestora. Ele sunt diferențiate pe baza unor criterii electrofiziologice și farmacologice (TSIEN R. W., 1991): pragul de activare, durata activării și inactivării, conductanța pentru  $Ba^{2+}$  comparativ cu cea pentru  $Ca^{2+}$ , sensibilitatea pentru antagoniștii organici sau anorganici, sensibilitatea la unele toxine naturale.

S-au descris două principale categorii de canale de calciu voltaj dependente, în funcție de pragul lor de activare. Acestea sunt:

**1. Canale activate de voltaj scăzut** (aproximativ – 70 mV) – canale LVA (*low voltage activated*) sau canale de tip T (*transient*), denumite și canale rapide („*fast  $Ca^{2+}$  channels*”). Deși sunt cunoscute mici diferențe, aceste canale par a avea caracteristici foarte similare: se activează la o depolarizare slabă, se inactivează rapid, de o manieră dependentă de voltaj, au o conductanță elementară mică (5–10 pS) și o permeabilitate egală pentru  $Ca^{2+}$  și  $Ba^{2+}$ . Nu a fost descris până în prezent pentru tipul T ligandul cu adevărat specific. Sunt relativ insensibile la dihidropiridine, insensibile la cadmiu, sensibile la conotoxin.

**2. Canale calcice de tip prag înalt** sau HVA (*high voltage activated*) – sunt activate de depolarizări mai ridicate (> -30 mV) și dau naștere la curenți care se inactivează puțin sau foarte lent.

S-a demonstrat existența de mai multe tipuri de HVA, dar la celulele musculare este prezent doar tipul L.

**Tipul L** (*long lasting*) – care are o inactivare foarte lentă, prag de activare înalt (-20 mV), o conductanță elementară mai mare (20–25 pS) și o permeabilitate pentru ionii de  $Ba^{2+}$  în general mai crescută decât pentru ionii de  $Ca^{2+}$ . Caracteristica esențială a tipului L este sensibilitatea sa la antagoniștii calcici și, în particular, la clasa de dihidropiridine, ca nifedipină și nitrendipină, blocate, de asemenea, de cadmiu. În schimb sunt insensibile la conotoxin. Și verapamilul blochează canalele L, mai eficient decât canalele T.

Tipul L joacă un rol major în cuplarea excitație-contracție (și excitație-secreție).

Există o mai mare variabilitate între tipurile de canale L la diferite tipuri celulare față de canalele T, dar marea sensibilitate la dihidropiridine poate fi luată drept criteriu caracteristic al unui canal L (DUPUIS B. A., 1987; RAEBURN B., 1987; BEAN B. P., 1989).

Multe canale voltaj-dependente pot fi reglate indirect prin fosforilări ce implică diverse proteinkinaze (TIAHO F., 1991) și prin proteine de cuplaj sau proteine G, sub acțiunea unor neurotransmițători sau hormoni (BOCKAERT J., 1989; KUO C. C., 1993).

Marea diversitate funcțională a canalelor calcice voltaj-dependente rezidă și din diversitatea în structura lor.



În general, valabil pentru toate tipurile de canale de calciu identificate pe baze funcționale, structural acestea sunt constituite din cinci subunități:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\delta$  și  $\gamma$  situate transmembranar și subunitatea  $\beta$ -citoplasmatică.

Subunitatea  $\alpha_1$  – este responsabilă de forma canalului și de situsurile receptoare pentru marile familii de antagoniști calcici (dihidropiridine, fenilalkilamine, benzotiazepine) (FOSSET M., 1983).

Este formată din patru domenii transmembranare organizate în șase  $\alpha$ -helix, numite  $S_1$  la  $S_6$ , al 4-lea segment al fiecărui domeniu este încărcat pozitiv ( $S_4$ ) și constituie detectorul de voltaj (*voltage sensor*). În plus, bucla peptidică ce leagă segmentele transmembranare 5 și 6 ( $S_5$ – $S_6$ ) în fiecare domeniu este formată din două componente  $\beta$  intramembranare denumite  $SS_1$ – $SS_2$ , implicate în formarea de pori și selectivitatea canalului.

Structura responsabilă de cuplajul excitație-contrație este bucla intracelulară care leagă domeniile II și III (TANABE T., 1990), iar domeniul I (segmentul  $S_3$ ) este responsabil de cinetica rapidă sau lentă a activării curentului calcic (NAKAI J., 1993).

Situsurile de fixare a dihidropiridelor (DHP) se situează spre partea extracelulară, la nivelul segmentelor  $SS_1$ – $SS_2$  și  $S_4$  a domeniului IV (TANG S., 1993).

Pentru verapamil, situsul de fixare este localizat spre fața intracelulară, la nivelul părții carboxilice ce continuă segmentul  $S_6$  (CATTERALL W. A., 1993).

În fixarea diltiazemului intervin acizi aminați aparținând segmentului  $SS_1$  al domeniului IV.

Au fost stabiliți, de asemenea, acizii aminați implicați în permeabilitatea și selectivitatea pentru ioni de  $Ca^{2+}$ , comparând canalele sodice și calcice a căror structură este global similară, dar selectivitatea ionică cu totul diferită; singurele variații de structură se găsesc în domeniile III și IV la nivelul  $SS_1$ – $SS_2$ , unde acizii aminați încărcăți negativ (Glu) la canalele calcice sunt înlocuiți cu acizi aminați încărcăți pozitiv (Lys și Arg) la canalele sodice.

Secvența peptidului subunității  $\alpha_1$  care permite interacțiunea cu subunitatea  $\beta$  va fi localizată la nivelul buclei intracelulare legând domeniile I și II (PRAGNELL M., 1994).

La diversitatea canalelor calcice contribuie, în plus, subunitățile auxiliare, ce intervin în modularea subunității  $\alpha_1$ .

Subunitatea  $\alpha_2$ – $\delta$  asociată unei subunități  $\alpha_1$  crește probabil intensitatea curentului calcic și poate stabiliza subunitatea  $\alpha_1$  în membrană (NARGEOT J., 1992).

Un rol particular îl joacă subunitățile  $\beta$ , cu mai multe izoforme considerate ca veritabili modulatori endogeni, care participă la aparenta diversitate a canalelor calcice (NARGEOT J., 1994).

## II. Canalele de calciu operate de receptori (ROC) (*receptor operated channels*).

Un agonist extracelular poate activa intrarea  $\text{Ca}^{2+}$  în celulele musculare netede și cardiace pe diferite căi (BREMEN C., 1989).

Activarea receptorilor deschide direct ROC. Aceste canale cationice au o conductanță scăzută (5–6 pS), sunt mai puțin selective, capabile să conducă un curent spre interior de  $\text{Na}^+$  și  $\text{Ca}^{2+}$ , sunt voltaj insensibile, mult mai puțin sensibile la antagoniștii canalelor de  $\text{Ca}^{2+}$ . În acest tip de ROC, agonistul induce o schimbare conformațională în molecula receptoare implantată în membrană pentru a expune un pol hidrofilic conducător de ioni (așa cum s-a descris pentru receptorul nicotinic al acetilcolinei). Alți agonști, ca histamina, noradrenalina (la mușchiul neted vascular), vasopresina și angiotensina, deschid indirect ROC, prin acțiunea intermediară a unui mesager secundar.

Mesagerii intermediari responsabili pentru acest proces pot fi: subunitățile alfa ale proteinelor ce leagă GTP (proteinele G), inozitol 1,4,5-trifosfat ( $\text{IP}_3$ ), inozitol 1,3,4,5-tetrafosfat ( $\text{IP}_4$ ) (BREMEN C., 1989; COBURN R. F., 1990; HOFMANN F., 1986; RASMUSSEN H., 1986 a și b).

Mesagerii secundari pot, de asemenea, facilita deschiderea VGC, ca  $\text{IP}_3$  și DAG. Aceștia rezultă în urma interacțiunii agonist-receptor. Această interacțiune duce la creșterea ratei influxului de  $\text{Ca}^{2+}$  și la activarea unei fosfolipaze C specifice care hidrolizează fosfatidil-inozitol 4,5-difosfat ( $\text{IP}_2$ ) membranar, rezultând fosfatidil-inozitol 1,4,5-trifosfat ( $\text{IP}_3$ ) și diacilglicerol (DAG), fiecare având funcția de mesageri secunzi.  $\text{IP}_3$  induce eliberarea  $\text{Ca}^{2+}$  din reticulul sarcoplasmatic (RS), iar DAG activează proteinkinaza C, responsabilă de faza susținută a răspunsului celular.

Un ultim mecanism important de activare de către agonist a VGC constă în depolarizarea ce rezultă prin deschiderea ROC. Gradul de depolarizare indus depinde de densitatea ROC și de numărul canalelor  $\text{K}^+$  ( $\text{Ca}^{2+}$ ) activate (BREMEN C., 1989; LATORE R., 1989).

Raportul canale ROC/canale VGC, în favoarea celor ROC, explică parțial relativa insensibilitate a mușchiului neted traheo-bronșic la blocantele canalelor de calciu.

### 2.3.2. Eliberarea $\text{Ca}^{2+}$ din surse celulare

1. Mitocondriile intervin în stocarea  $\text{Ca}^{2+}$  doar când concentrația  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular crește mult, în timpul eliberării  $\text{Ca}^{2+}$  din RS sau când influxul de  $\text{Ca}^{2+}$  este anormal de mare, printr-o pompă de  $\text{Ca}^{2+}$  care-l transportă din citosol în matricea mitocondriilor.



Mitocóndriile sunt implicate, deci, în homeostazia  $\text{Ca}^{2+}$  numai în condiții de supraîncărcare cu  $\text{Ca}^{2+}$ . În ciclul normal contracție-relaxare, mitocondriile nu au nici o funcție reglatoare (SOMLYO A. P., 1985).

**2. Reticulul sarcoplasmatic (RS)** reprezintă sursa majoră intracelulară pentru activarea fibrei musculare (AKERMAN K. E. D., 1982, BREEMEN C., 1989; RASMUSSEN H., 1986 a). RS constă dintr-o rețea continuă de tuburi mărginite de membrane din care la celula musculară netedă, o fracțiune considerabilă este localizată periferic. Membrana celulelor excitabile nu poate comunica direct cu RS profund. Proporția de RS în mușchiul neted variază între 2 și 7% din volumul celular (POPESCU L. M., 1975; SOMLYO A. P., 1985).

Mobilizarea  $\text{Ca}^{2+}$  sechestrat se realizează prin deschiderea a două familii de canale calcice:

- familia receptorilor de inozitol 1,4,5 – trifosfat ( $\text{IP}_3$ ) și
- familia receptorilor de ryanodină (vezi fig. 2/1).

**a) Receptorul de  $\text{IP}_3$ .** Numeroși receptori pentru hormoni sau neurotransmițători sunt cuplați cu fosfolipaza C prin intermediul unei proteine G (CALLEWAERT G., 1992; SORRENTINO V., 1993; FASOLATO C., 1994; NARGEOT J., 1994; BOCKAERT J., 1995). În prezența agonistilor, fosfolipaza C duce la formarea de  $\text{IP}_3$ . Acesta difuzează spre receptorii săi de la nivelul RS.

Receptorul de  $\text{IP}_3$  este un tetramer care posedă o activitate de canal (CALLEWAERT G., 1992; BERIDGE M. J., 1993; MAUGER J. P., 1994; MIKOSHIBA K., 1993; SORRENTINO V., 1993; EHRLICH B. E., 1994).  $\text{IP}_3$  se fixează de o manieră echivalentă pe cele patru subunități ale receptorului. Viteza de disociere a  $\text{IP}_3$  de pe aceste situsuri este influențată de cationi mono-, bivalenți și de ATP.

În prezența agonistului se deschide canalul calcic de  $\text{IP}_3$ , cu mobilizarea  $\text{Ca}^{2+}$  sechestrat la acest nivel, provocând fluctuații ale  $[\text{Ca}^{2+}]$ .

Aspectul pulsatil, tranzitoriu, de modulare a  $[\text{Ca}^{2+}]$  este determinat în mare parte de retrocontrolul activității receptorului de  $\text{IP}_3$ , în care calciul deține un loc important (CLARET M., 1994).

În celulele musculare netede prezența calciului în citoplasmă ar putea condiționa mobilizarea calciului prin receptorul de  $\text{IP}_3$  al RS:

- la valorile  $[\text{Ca}^{2+}]$  apropiate de concentrația de repaus,  $\text{Ca}^{2+}$  este coactivator al receptorilor de  $\text{IP}_3$ , amplificând deschiderea acestor canale;
- la concentrații mari,  $\text{Ca}^{2+}$  devine un puternic inhibitor al canalelor de  $\text{IP}_3$ , ce limitează eliberarea sa (BEZPROZVANNY I., 1993).

În paralel, calciul sechestrat în RS mobilizează, de asemenea, propria sa eliberare sub influența  $\text{IP}_3$ :

– niveluri intermediare de  $\text{Ca}^{2+}$  intraluminal, apropiate de 30% din capacitatea totală de sechestrare provoacă o potențializare forte a efectului  $\text{IP}_3$ ;

– la concentrații mari, apropiate de 100%, receptorul de  $\text{IP}_3$  pierde esențial sensibilitatea la  $[\text{Ca}^{2+}]$ .

**b) Receptorii de ryanodină** – sunt din abundență studiați în celulele musculare (MIKOSHIBA K., 1993; SORRENTINO V., 1993; ERLICH B. E., 1994). Funcționalitatea lor este frecvent asociată cu cea a canalelor calcice membranare dependente de potențial (VGC).

Deschiderea VGC de tip L determină o creștere a  $[\text{Ca}^{2+}]$  prin deschiderea canalelor receptoare de ryanodină ale RS (MISSIAEN L., 1992; MARTY I., 1994).

Existența celor două familii de canale calcice ale RS permite o complementaritate a modului de transducție între membrana plasmatică și compartimentele calcice intracelulare.

La terminarea semnalului calcic, o parte din ionii de calciu reintră în RS datorită pompei calcice, iar o altă parte trec spre exteriorul celulei prin intervenția pompelor și schimbătorilor calcici ai membranei plasmactice.

## 2.4. Mecanismele de cuplare în fibra musculară netedă a căilor respiratorii

Mecanismele de cuplare implicate în generarea de forță contractilă, menținerea acesteia și relaxarea mușchiului neted sunt complexe.

Clasic, se disting două mecanisme de cuplare a excitației cu contracția:

– **Cuplarea electro-mecanică** – dependentă de modificările potențialului de la suprafața membranei, ce sunt urmate de contracția mecanică;

– **Cuplarea farmaco- sau chimio-mecanică** – datorată acțiunii unor mesageri extracelulari care pot antrena o contracție independent de variația de potențial membranar (COBURN R. F., 1990).

Această clasificare, făcută de Somlyo în 1968, a revenit în actualitate după ce s-a dovedit că activarea proteinelor G în procesul de transducție membranară este comună ambelor tipuri de cuplare.

### Cuplarea electro-mecanică

Mecanismele de la suprafața membranară din timpul cuplării electro-mecanice includ activarea unor canale cu efect de depolarizare prin intermediul proteinelor G. Canalele ionice care permit generarea de curenți ionici transmembranari în fibra musculară netedă traheo-bronșică sunt de două tipuri: canale ionice de calciu și de potasiu.



Canalele ionice de calciu voltaj-dependente de la nivelul sarcolemiei musculaturii netede bronșice se deschid la valori ale potențialului cuprinse între  $-30$  mV până la  $-20$  mV și amplitudinea curentului calcic antrenat este maximă când potențialul de membrană atinge valori de  $+10 - +20$  mV.

Canalele ionice de potasiu voltaj-dependente de tip  $K_{DR}$  (pentru „*delayed rectifier*”) contribuie la stabilizarea potențialului de membrană și limitează depolarizarea prin generarea unui eflux de ioni de  $K^+$  (MARTHAN R., 1994).

Canalele ionice de potasiu dependente de calciu, maxi-K sau  $K_{Ca}$  se deschid în condițiile creșterii concentrației de calciu citosolic și au o conductanță mare, de ordinul a 266 pS. La nivelul musculaturii căilor respiratorii, acest tip de canale de K sunt deschise de  $\beta$ -agoniști.

Caribdotoxin, un blocant al maxi-canalelor de K, inhibă efectul bronhodilatator al  $\beta$ -agoniștilor și al altor agenți care cresc AMPc, un efect similar având și Iberitoxina, un blocant de mare selectivitate al maxi-canalelor de K.

Răspunsul a fost obținut *in vitro* la doze mici de  $\beta$ -agoniști pe mușchiul neted traheo-bronșic și pare a fi unul din mecanismele principale de acțiune a  $\beta$ -agoniștilor în controlul bronhomotricității. Prin studii de „*patch clamp*” s-a confirmat că deschiderea canalelor  $K_{Ca}$  se realizează în condițiile creșterii AMPc. Studii recente relevă faptul că deschiderea acestor canale poate fi indusă de  $\beta$ -agoniști și independent de nivelul AMPc, prin subunitatea  $\alpha_s$  a proteinei  $G_s$  cuplată cu receptorul  $\beta_2$ -adrenergic. Datele sugerează că receptorii  $\beta_2$ -adrenergici sunt cuplați direct cu maxi-canalele de K din fibrele musculare netede traheo-bronșice.

Canalele ionice de potasiu dependente de ATP,  $K_{ATP}$  se deschid în condițiile scăderii concentrației de ATP citoplasmatic (BLACK J. L., 1990).

Funcționarea în ansamblu a acestor canale potasice explică faptul că, în condiții fiziologice, membrana fibrelor musculare netede bronșice se depolarizează puțin și, în consecință, nu prezintă potențial de acțiune spontan sau provocat. Astfel, intrarea calciului prin canalele calcice voltaj-dependente (care se deschid numai în condițiile unei depolarizări marcate) este limitată.

### Cuplarea farmaco-(chimio-) mecanică

Acest mecanism joacă un rol major în contracția musculaturii netede bronșice. În secvența etapelor care leagă interacțiunea mesagerului extracelular de creșterea concentrației citosolice de calciu liber, un rol deosebit este jucat de proteinele G.

#### 2.4.1. Interacțiunea receptor-proteine G

Toate proteinele G au activitate guanozin-trifosfatazică și catalizează conversia guanozin-trifosfatului (GTP) la guanozin-difosfat (GDP).

În stare de repaus, proteina G este un trimer alfa-beta-gama, cu GDP ocupând locul de legare de pe subunitatea alfa. Când un receptor este ocupat de un agonist, au loc schimbări conformaționale, cu eliberarea GDP și fixarea GTP de subunitatea  $\alpha$ , care se disociază de subunitățile  $\beta$  și  $\gamma$ . Alfa guanozin-trifosfatul este forma activă a proteinei G și dufuzează spre moleculele efector asociate ca enzime sau canale ionice. Acest proces se termină prin hidroliza GTP la GDP prin GTP-aza subunității  $\alpha$ . Alfa GDP rezultat, disociat de pe molecula efector se reasociază cu subunitățile  $\beta$  și  $\gamma$  pentru a putea fi activat din nou (BARNES P. J., 1994).

Se cunosc diferite forme de subunități  $\alpha$ ,  $\beta$  și  $\gamma$ , rezultând o mare heterogenitate a proteinelor G, implicate în mecanismele de traducere a semnalului. Proteinele  $G_s$  și  $G_i$  stimulează și, respectiv, inhibă adenilat ciclaza cu modularea concentrației AMPc. Descoperirea, conform căreia  $G_s$  poate activa și canalele de  $Ca^{2+}$  membranare, a arătat că proteina G poate controla mai mulți efectori.  $\beta$ -receptorii și receptorii pentru VIP stimulează prin  $G_s$  adenilat-ciclaza, pe când activarea altor receptori cum ar fi  $\alpha_2$ -adrenergici sau  $M_2$  muscarinici inhibă adenilat-ciclaza prin  $G_i$ . Alte proteine G cum ar fi  $G_q$ ,  $G_o$ ,  $G_{p12}$ , cuplează receptorii cu activarea fosfolipazei C sau  $G_k$  care este cuplată cu canalul de  $K^+$  (BARNES P. J., 1995).

#### 2.4.2. Mecanisme de cuplare prin sistemul traductor inozitolfosfat

Legarea unui agonist mobilizator al  $Ca^{2+}$  la receptorii membranei plasmactice, activează o G proteină care leagă și hidrolizează GTP,  $G_q$ , care are o structură diferită de a proteinelor  $G_s$  și  $G_i$ . Acest fapt duce la activarea unei fosfodiesteraze, fosfolipaza C. Ca urmare, în spațiul învecinat membranei plasmactice apare o creștere rapidă a concentrației de Inozitol (1,4,5)  $P_3$  ( $IP_3$ ), Inozitol (1,4) $P_2$  și Inozitol 1P și a izomerilor ciclici corespunzători, maximul fiind atins în câteva secunde. Simultan crește și concentrația membranară a diacilglicerolului (DAG), al doilea fragment din reacția de desfacere a Fosfatidil-Inozitol (4,5)  $P_2$  ( $PIP_2$ ). DAG poate funcționa ca mesager secundar puternic.

Analiza directă a inozitolfosfaților a dus la ipoteza că pasul limitator de viteză este hidroliza  $PIP_2$ , producând  $IP_3$  și DAG (BERRIDGE M. J., 1989).  $IP_3$  eliberat, se leagă de receptorii membranei reticulului sarcoplasmatic cu afinitate mare (1S). Ca urmare a deschiderii unor canale de calciu sensibile la  $IP_3$ ,  $Ca^{2+}$  din aceste rezervoare este liberat în citoplasmă. Creșterea  $Ca^{2+}$  intracelular activează mai multe proteinkinaze calciu și calmodulin dependente, sau proteinkinaze activate de calciu și fosfolipide la nivelul membranei celulare ca proteinkinaza C. Aceasta este activată de ambii produși ai reacției de desfacere, adică de  $Ca^{2+}$  eliberat de  $IP_3$  și de DAG. Proteinkinaza C activează fosforilează și alte proteine și influențează astfel numeroase funcții. Există evidența fosforilării mediate de C-kinaza a lanțului ușor de miozină (MLC), dar într-un loc distinct de cel catalizat de MLCK.



Proteinkinaza C este și receptorul celular pentru forbolesteri. Efectele celulare ale acestora nu sunt identice cu cele ale hormonilor care duc la sinteza DAG, deoarece forbolesterii stimulează doar proteinkinaza C (HOFMANN F., 1986).

Ca și alți mesageri de ordinul II,  $IP_3$  și DAG trebuie eliminați rapid și eficient din compartimentul lor de acțiune. Există două căi de inactivare a  $IP_3$ . În primul rând, este defosforilat în mai multe trepte prin acțiunea fosfatazelor specifice. Pentru a elimina potențialul eliberator de  $Ca^{2+}$  a  $IP_3$ , prima reacție de defosforilare este importantă, desfacerea fosfatului din poziția 5, de către 5- fosfataza  $Mg^{2+}$  dependentă. (vezi fig. 2/2)

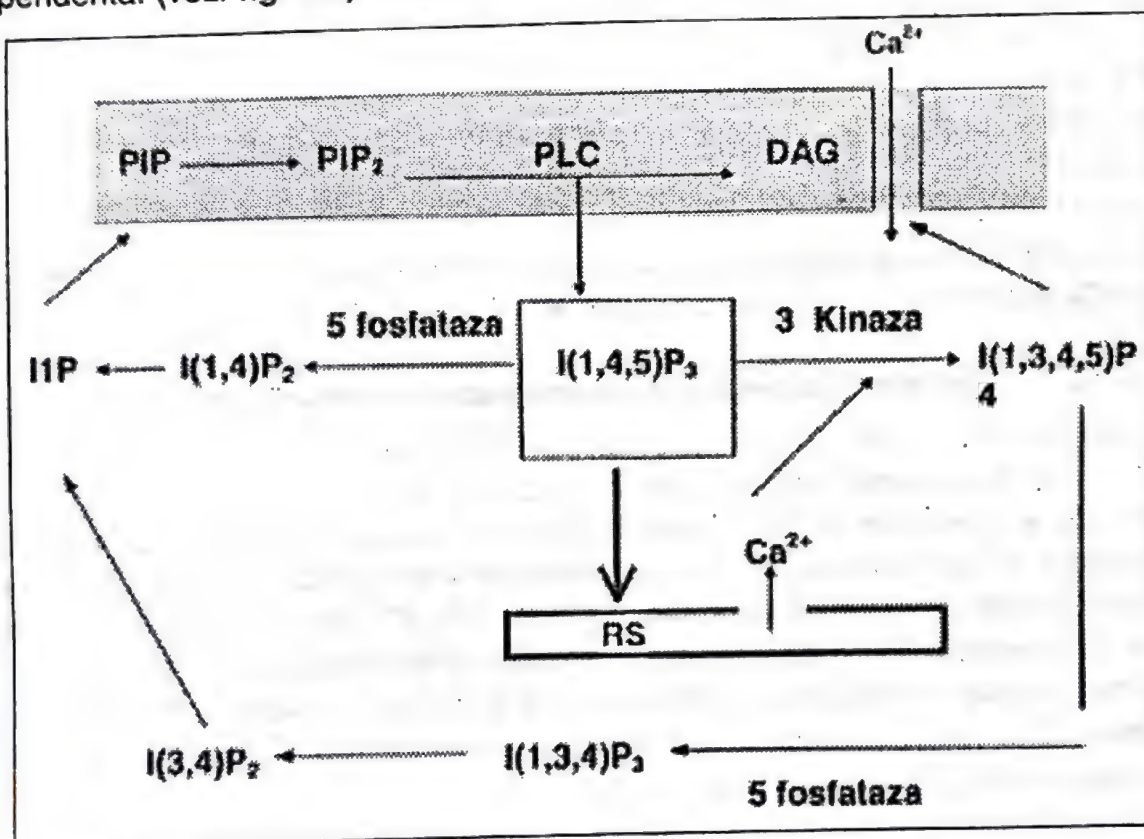


Fig. 2.2 – Ciclul inozitolfosfaților

### Ciclul inozitolfosfaților

$Ins(1,4,5)P_3$ -3-kinaza, prezintă activitate optimă la concentrații micromolare de  $Ca^{2+}$ , inducând  $Ins(1,3,4,5)P_4$ , care nu este numai un produs de inactivare al  $IP_3$ , ci este capabil să deschidă canalele de calciu din membrana plasmatică, putând fi el însuși un mesager.

Eliberarea de  $Ca^{2+}$   $IP_3$  dependentă din reticulul sarcoplasmatic și activarea de către  $Ca^{2+}$  a  $Ins(1,4,5)P_3$ -3-kinazei ar fi numai primele etape ale unei secvențe de reacții a cărei finalitate este o creștere fiziologică maximă în concentrația  $Ca^{2+}$ .

intracelular. Și  $\text{Ins}(1,3,4)\text{P}_3$ , produsul de defosforilare al  $\text{Ins}(1,3,4,5)\text{P}_4$  este capabil să elibereze calciu, chiar dacă nu cu aceeași capacitate. Dintre inozitoldifosfați, doar un izomer  $\text{Ins}(4,5)\text{P}_2$  are un slab potențial mobilizator de  $\text{Ca}^{2+}$ . Remarcabile sunt descoperirile că  $\text{PIP}_2$  însuși este capabil să elibereze calciu din microzomi și că  $\text{IP}_3$  pare, de asemenea, să deschidă canale de calciu ale membranei plasmatică, arătând că acești produși joacă roluri și mai importante în controlul fluxurilor celulare de calciu.

Următoarele etape de defosforilare a produșilor  $\text{Ins}(1,4)\text{P}_2$  și  $\text{Ins}(1,3,4)\text{P}_3$  care se produc după 5-defosforilare sunt mediate de enzime citoplasmatică, părând a exista două căi: una care este și alta care nu poate fi inhibată de litiu. Fosfoinozotidele din membrana citoplasmatică prezintă cea mai înaltă rată de transformare dintre toate fosfolipidele din membrană, aceasta reflectând semnificația lor funcțională în mecanismul transducției semnalului. Mai mult, o parte din conținutul de  $\text{Ptd-Ins}$  este prezent în membranele intracelulare ale reticulului sarcoplasmatic și aparatului Golgi, deoarece resinteza  $\text{Ptd-Ins}$  se realizează în aceste două sisteme membranare.

Partea metabolismului fosfoinozitic care este esențială pentru transducția semnalului constituie o cale metabolică deschisă. Ca rezultat al activității considerabile a acestei căi metabolice și a disponibilității limitate atât de resturi lipidice, cât și de inozitol din fosfoinozotide, această cale pare a fi închisă într-un ciclu de reacții (vezi fig. 2/2).

Investigațiile detaliate, asupra rolurilor specifice și a mecanismelor de reglare a acestui sistem în celule, ar putea duce la o nouă dimensiune în terapia unor boli, ce ar depăși cu mult prezentele principii terapeutice, ca selectivitate și eficacitate terapeutică.

## 2.5. Bazele biochimice ale contracției mușchiului neted al căilor respiratorii

În ultimii ani s-au făcut progrese însemnate în înțelegerea mecanismelor biochimice ce stau la baza contracției mușchiului neted din căile aerifere.

Semnalul de transducție în mușchiul neted include:

a) un mecanism pentru conversia energiei chimice (ATP) în activitate mecanică;

b) un mecanism pentru integrarea la stimuli multipli.

Hidroliza ATP realizată în timpul interacțiunii ciclice a actinei cu miozina este locul final pentru ambele mecanisme (DE LANEROLLE P., 1991).

Agoniștii contractili, interacționând via receptor – proteină Gq – activează fosfolipaza C, generând  $\text{IP}_3$  și DAG din  $\text{PIP}_2$ ,  $\text{IP}_3$ , prin legarea la proteinele canale de  $\text{Ca}^{2+}$  din membrana RS și crescând starea probabil deschisă a canalului, induc



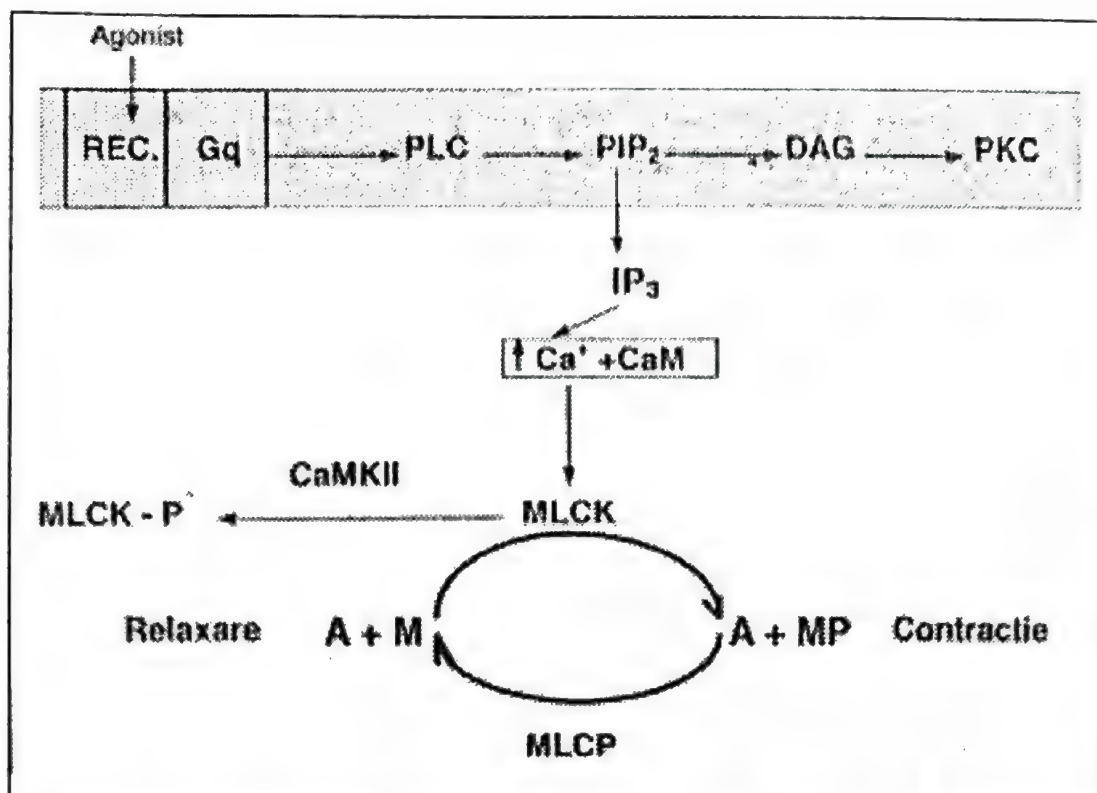


Fig. 2.3 – Model al efectelor celulare induse de agoniștii mobilizatori al  $\text{Ca}^{2+}$  în fibra musculară netedă a căilor respiratorii

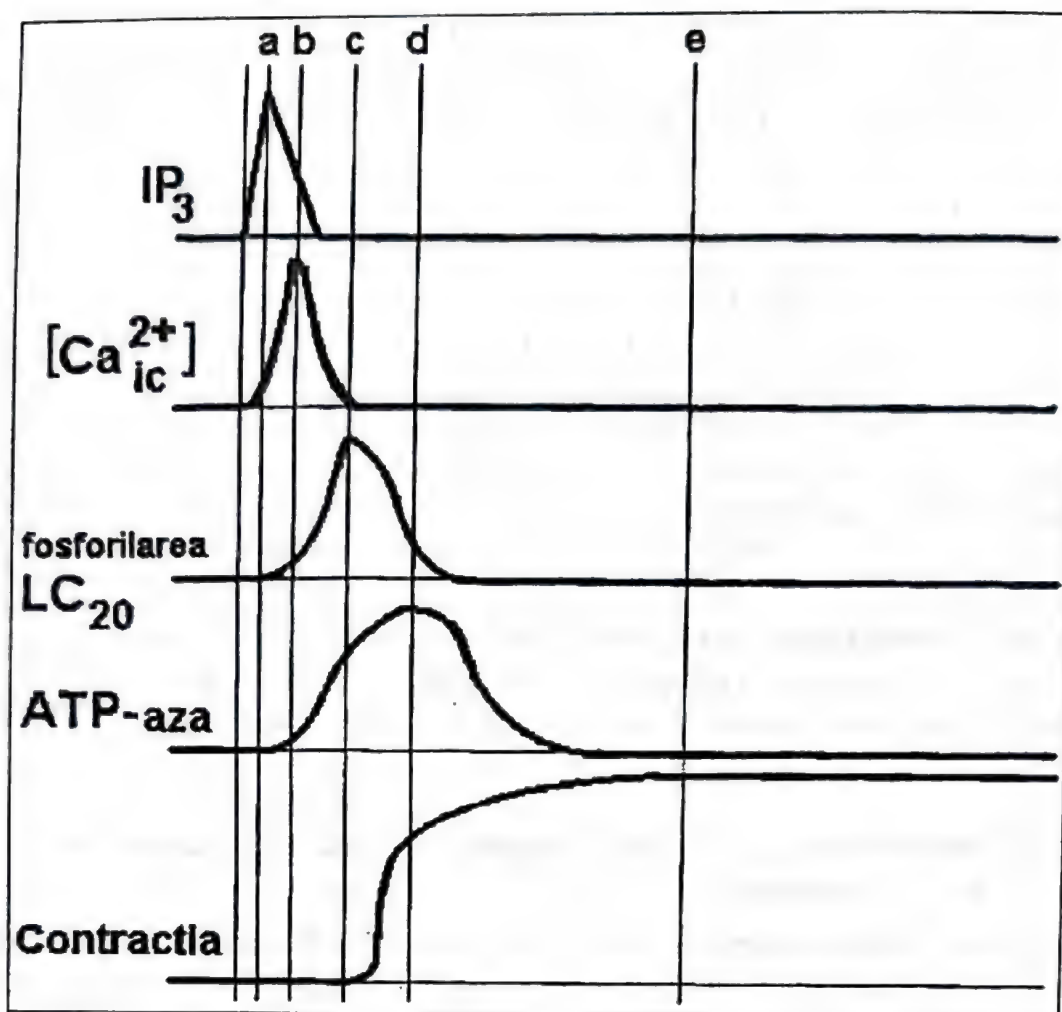
prompt eliberarea calciului din rezervele intracelulare. Acest  $\text{Ca}^{2+}$  liber activator se combină cu calmodulina (vezi fig. 2/3).

Complexul  $\text{Ca}^{2+}$  calmodulin, activează *miozin light chain kinase* (MLCK), care la rândul-i va fosforila lanțurile ușoare ale miozinei de 20 kDa. Acest eveniment este recunoscut a fi necesar atât pentru inducția activității miozin ATP-azei, cât și pentru întrepătrunderea actinei cu miozină (KAMM K. E., 1985). Rata la care este generată tensiunea, componenta fazică a contracției, este determinată de rata la care se ciclează punțile între actină și miozină.

Generarea  $\text{IP}_3$  de un agonist contractil este tranzitorie. Astfel apare că  $\text{IP}_3$  este adaptat numai pentru a declanșa creșterea  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular pentru a iniția procesul contractil. În absența oricărei eliberări ulterioare de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, concentrația acestuia scade (dar nu necesar) către valorile bazale. Această scădere încheie activarea MLCK.

Deci, fosforilarea miozinei trebuie, de asemenea, să scadă ca și activitatea ATP-azică a miozinei. În fața acestor evenimente aparent inactivatoare, contracția mușchiului neted din căile respiratorii este bine menținută (vezi fig. 2/4).

S-a propus că menținerea unei astfel de forțe staționare este o consecință a unui tip modificat de atașare între actină și miozină. Astfel, în loc de punți rapid



**Fig. 2.4 – Reprezentare schematică a unor evenimente biochimice implicate în generarea contracției mușchului neted al căilor respiratorii (după Rodger, I. W.);** a – nivelul maxim al  $IP_3$ , ce revine rapid la valoarea inițială; urmărind acest eveniment,  $Ca^{2+}$  are o creștere rapidă ajungând la un maxim (b);  $LC_{20}$  este fosforilat cu maximum în c și imediat după aceea miozin ATP-aza este activată, cu maxim de activitate în d. Fosforilarea  $LC_{20}$  și activitatea miozin -ATP-azei se reduc, deși contracția tonică (e) este menținută.

ciclabile, se formează așa-numitele *latch bridges* – punți de miozină defosforilată – care se ciclează lent sau deloc (RASMUSSEN H., 1990; HAY C. M., 1989). Aceste legături între actină și miozină sunt  $Ca^{2+}$  dependente, deoarece mușchiul neted al căilor aerifere în starea „zăvorâtă” (*latch state*) poate fi relaxat prin îndepărtarea  $Ca^{2+}$ . Se presupune că aceste punți *latch bridges* nu sunt reglate direct de  $Ca^{2+}$ . Totuși un mecanism  $Ca^{2+}$  dependent operează utilizând probabil  $Ca^{2+}$  extracelular, ce intră în celulă prin canale operate de receptori.

Dată fiind concentrația intracelulară a  $Ca^{2+}$  scăzută, existentă în timpul fazei tonice a contracției, rezultă că proteinele contractile ar trebui expuse unui proces



sensibil la  $\text{Ca}^{2+}$  pentru a adopta starea de *latch bridges*. Încă nu se știe clar cum se petrec aceste evenimente. O ipoteză atractivă se referă la implicarea proteinkinazei C care este activată de DAG (RASMUSSEN H., 1990). Interesant, DAG este generat din mai multe surse în timpul fazei susținute a contracției. Inițial este generat din  $\text{Ptd-Ins}(4,5)\text{P}_2$  de către fosfolipaza C. Apoi DAG este derivat din fosfatidilcolină de către o fosfolipază C specifică și, de asemenea, în urma acțiunii unei fosfolipaze D (RODGER I. W., 1992). Rezultatul acestor evenimente este o creștere susținută a nivelurilor totale de DAG în mușchi și, drept consecință, o activare persistentă a fosfokinazei C. S-a observat că fosforilarea anumitor proteine contractile de către fosfokinaza C determină sensibilitatea crescută la  $\text{Ca}^{2+}$ . Astfel s-a postulat că există două căi separate – deși, după toate aparențele, interdependente – de control a contracției mușchiului neted al căilor respiratorii. Prima, calea calmodulin-MLCK, se crede a fi responsabilă de dezvoltarea rapidă, inițială a tensiunii. A doua cale, via-reacțiile de fosforilare mediate de fosfokinaza C, este privită ca fiind responsabilă pentru adaptarea celulei în susținerea contracției cu un cost minim, deoarece un astfel de mecanism conservă energie și protejează celulele musculare de consecințele toxice ale supraîncărcării intracelulare cu  $\text{Ca}^{2+}$  (RODGER I. W., 1992).

### **2.5.1. Activarea de către $\text{Ca}^{2+}$ a proteinelor contractile ale mușchiului neted al căilor respiratorii**

În general se presupune că interacțiunea ciclică Mg-ATP dependentă a punților laterale dintre miozină și actină este baza moleculară a generării forței și scurtării. În timp ce numărul de punți laterale ce interacționează cu actina determină forța, frecvența lor de ciclare determină viteza cu care mușchiul se poate scurta. Mușchiul neted se remarcă prin aceea că atât numărul, cât și frecvența punților laterale, pot fi reglate independent.

Activarea prin  $\text{Ca}^{2+}$  este mediată:

I. fosforilarea  $\text{Ca}^{2+}$  – calmodulin dependentă a lanțurilor ușoare a miozinei de 20 kDa ( $\text{LC}_{20}$ ).

II. un mecanism al filamentului subțire  $\text{Ca}^{2+}$  dependent, implicând caldesmona, calponina, acționând împreună cu tropomiozina.

### **2.5.2. Teoria activării prin fosforilarea mușchiului neted**

Fosforilarea reversibilă și defosforilarea  $\text{LC}_{20}$ , catalizată de MLCK  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin dependentă și de fosfataze specifice, se crede a fi, în general, mecanismul reglator primar al activării mușchiului neted (GERTHOFFER W. T., 1991; DE LANEROLLE P., 1991; SOMLYO A. P., 1994).



Stimularea mușchiului neted produce o creștere a  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, care apoi se leagă de calmodulină. Când 4 moli de  $\text{Ca}^{2+}$  se leagă de 1 mol de calmodulină, ea poate activa MLCK, rezultând fosforilarea serinei 19 la capătul amino al  $\text{LC}_{20}$  și activarea Mg-ATP-azei miozinice de către actină. În anumite condiții  $\text{LC}_{20}$  poate fi fosforilat și într-un al doilea loc, treonina 18, de către MLCK.

Defosforilarea  $\text{LC}_{20}$  de către o fosfatază specifică duce la inhibarea Mg-ATP-azei, actin-activate a miozinei. Se presupune că miozin fosfataza (MLCP) este la fel de efectivă în prezența sau absența  $\text{Ca}^{2+}$ .

Într-un număr de preparate de mușchi neted din diferite surse, intacte sau dezepitelizate, s-a demonstrat că fosforilarea miozinei precede creșterea forței. Totuși, deși defosforilarea miozinei reduce activitatea Mg-ATP-azei actomiozinice și poate fi corelată cu relaxarea preparatelor intacte sau denudate și alte procese pot fi implicate în reglarea relaxării mușchiului neted.

Alți autori au prezentat că tensiunea se poate dezvolta ușor în țesuturi stimulate cu forbolesteri, ori cu 3,4-diaminopiridină, antagonist al canalelor de  $\text{K}^+$  fără sau numai cu o ușoară creștere în fosforilarea  $\text{LC}_{20}$ . Și mai mult, forța poate fi menținută într-o manieră calciu dependentă în prezența defosforilării lanțurilor ușoare aproape de niveluri bazale. În unele preparate, fosforilarea pare să fie corelată mai bine cu viteza de scurtare fără încărcare, decât cu forța, sugerând că fosforilarea reglează viteza de scurtare mai curând decât forța (PFITZER G., 1992).

Menținerea tensiunii la niveluri scăzute de fosforilare a fost atribuită așa-numitelor *latch bridges*, care ciclează lent sau deloc, dar sunt capabile să mențină forța, via unui al doilea mecanism reglator calciu dependent.

Într-o modificare a ipotezei lor inițiale LATCH, Murphy și col. au propus un model în care fosforilarea și defosforilarea miozinei poate explica dezvoltarea și menținerea tensiunii la niveluri joase ale fosforilării (vezi fig. 2/5): ● punțile laterale se pot atașa numai în starea fosforilată ● dacă punțile laterale sunt defosforilate înainte de detașarea de actină, atunci ele sunt transformate în *latch bridges* care, în contrast cu *cross bridges* fosforilate au o scăzută rată de detașare.

Deoarece în acord cu Murphy și col., punțile laterale detașate nu se reatașază dacă nu sunt fosforilate de MLCK, menținerea stării „*latch*” ar depinde de furnizarea continuă de *latch bridges* de cele fosforilate anterior. Sunt necesare încă multe experimente pentru a înțelege reglarea stării LATCH.

### 2.5.3. Mecanismele reglării ale filamentului subțire

Evidențe considerabile sugerează un mecanism reglator al filamentului subțire, alături de fosforilarea miozinei. Cele două proteine ale filamentului subțire, caldesmona și calponina, ce au fost purificate și caracterizate biochimic, inhibă ATP-aza miozinei nefosforilate și defosforilate. Caldesmona se leagă de actină în



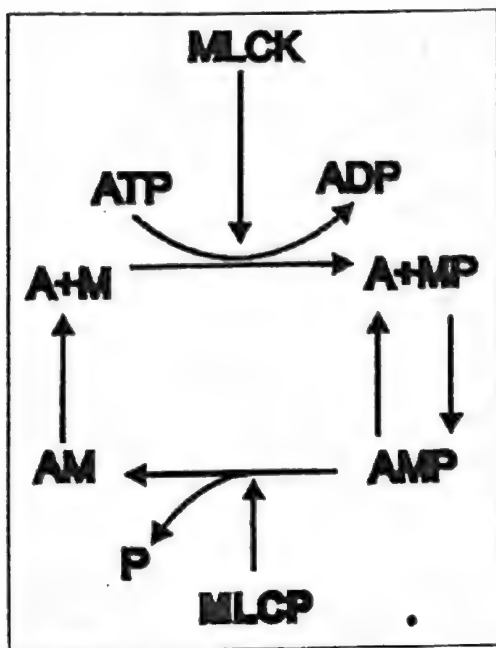


Fig. 2.5. – Model al punților „cross bridges” rapid ciclabile și al punților „latch bridges” lent ciclabile (după Pfitzer și Rüegg)

absența  $\text{Ca}^{2+}$  și de calmodulină în prezența  $\text{Ca}^{2+}$ . Astfel, caldesmona poate regla interacțiunea actină-miozină printr-un mecanism flip-flop calciu calmodulin dependent. Într-adevăr, mulți investigatori au găsit inhibiția ATP-azei activate de actină, a miozinei fosforilate și defosforilate de către caldesmonă, inhibiție învinsă prin adăugarea de calciu în prezența calmodulinei. Dezinhibiția nu rezultă neapărat în disocierea caldesmonei de filamentele de actină-tropomiozină. Legarea crescută a miozinei de actină și inhibiția simultană a ATP-azei de către caldesmonă, îi permite acestuia să joace un rol de *latch* proteină.

În mușchiul neted contracția tonică este inițiată de o creștere temporară a  $\text{Ca}^{2+}$  liber mioplasmatic, dar apoi este menținută în starea *latch* la niveluri scăzute de  $\text{Ca}^{2+}$  și de fosforilare a lanțurilor ușoare de miozină. Relația  $\text{Ca}^{2+}$

liber intracelular cu forța de contracție nu este unică, ci variabilă. De exemplu, sensibilitatea la  $\text{Ca}^{2+}$  poate diferi în mușchiul neted și poate, de asemenea, depinde de tipul de stimulare și de durata contracției.

Relația variabilă a  $\text{Ca}^{2+}$  și activitatea contractilă sugerează că stabilirea unei anumite concentrații de  $\text{Ca}^{2+}$  nu poate fi pasul final în activarea răspunsului contractil. Ea este, din contră, începutul unei reacții în cascadă, implicând calmodulina ca receptor de  $\text{Ca}^{2+}$ , activarea MLCK, fosforilarea miozinei și interacția actină-miozină.

#### 2.5.4. Rolul proteinkinazei C și a filamentelor intermediare

Proteinkinaza C (PKC) are un rol deosebit în susținerea contracției mușchiului neted al căilor respiratorii umane *in vitro* (YANG K., X. F., 1995). PKC, activată de calciu și DAG, este, de asemenea, implicată în modularea sensibilității la  $\text{Ca}^{2+}$ . Se cunosc 12 izoforme de PKC și este important de identificat care izoforme sunt implicate în contracția susținută și care prezintă o expresie anormală la astmatici. După distribuția tisulară și funcții au fost împărțite în trei grupe: grup A – izoformele convenționale sau calciu dependente:  $\alpha$ ,  $\beta$ I,  $\beta$ II, și  $\gamma$ ; grup B – calciu independente sau izoforme noi:  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\eta$  și  $\theta$ ; grup C – izoforme atipice:  $\lambda$ ,  $\mu$ ,  $\tau$  și  $\zeta$ . Faptul că în mușchiul neted al căilor respiratorii există multiple izoforme de PKC sugerează rolul complex al acestei enzime, atât în contracție, cât și în replicare (BLACK J. L., 1995).

PKC, fosforilează lanțurile grele ale miozinei, lanțurile ușoare ale miozinei la serina 1, serina 2, treonina 9 (DE LANEROLLE P., 1991), caldesmona și proteine citoscheletale: desmina, filamina, vimentina (KAMM K. E., 1985). Semnificația fiziologică a acestor fosforilări este departe de a fi clară. Se sugerează că domeniul filamentelor intermediare poate fi implicat în reglarea contracției tonice, în timp ce domeniul actomiozinic este răspunzător de faza inițială, rapidă a contracției.

DAG, rezultat din hidroliza fosfatidilinozitol-difosfat ( $PIP_2$ ) sub acțiunea fosfolipazei C sau din fosfatidilcolină prin fosfolipaza D, activează specific izoenzima  $PKC_{\epsilon}$ . Răspunsul contractil se realizează direct prin fosforilarea calponinei (CaP), cât și indirect prin fosforilarea caldesmonei (CaD) de către MAP kinaze (*mitogen-activated protein kinase*). Activarea cascadei MAP-K este urmată de scăderea afinității calmodulinei pentru actină, dezinhibirea ATP-azei miozinice și formarea punților actomiozinice (ALLEN B. G., 1994) (fig. 2/6).

Semnificația fiziologică a fosforilării  $LC_{20}$  prin proteinkinaza C, a fost investigată prin tratarea mușchiului neted cu forbolesteri. Forbolesterii, activatori ai proteinkinazei C induc dezvoltarea lentă a contracțiilor în fibre intacte și denudate cu numai o ușoară creștere a fosforilării  $LC_{20}$ , care poate fi datorată unei creșteri

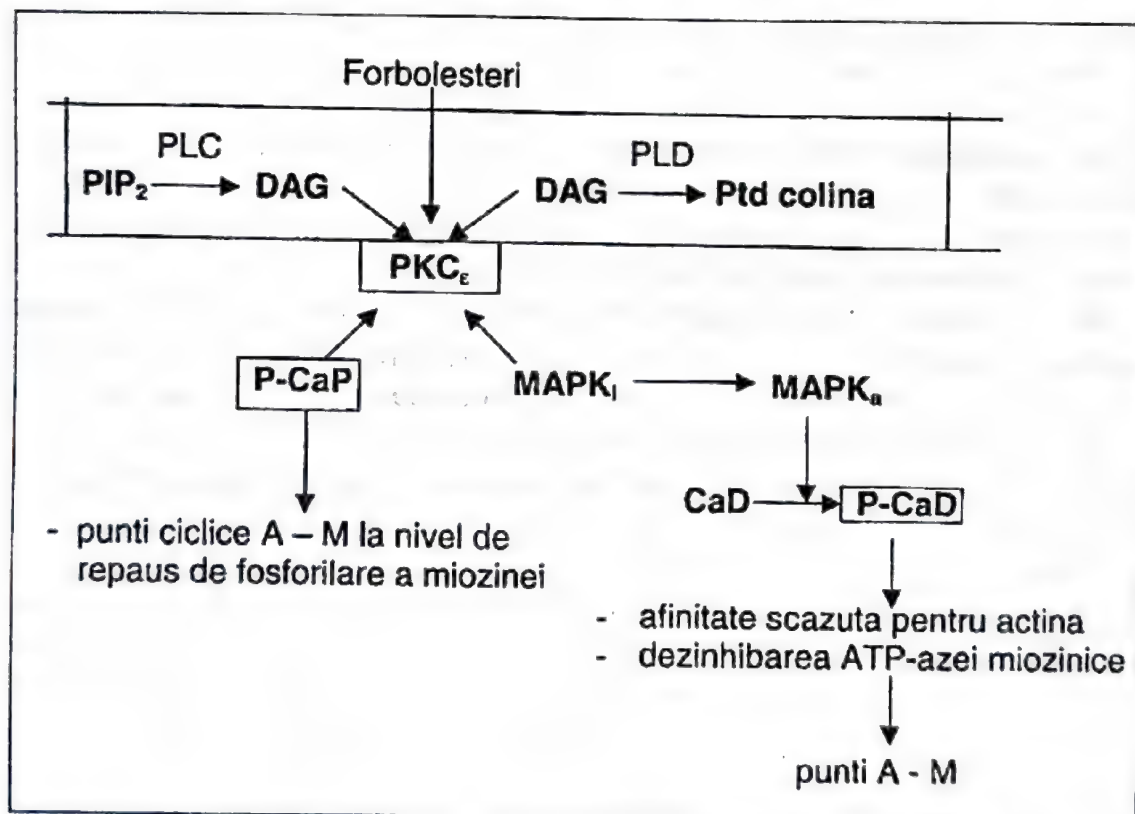


Fig. 2.6 – Reprezentare schematică a rolului proteinkinazei C (PKC) în realizarea răspunsului contractil a fibrei musculare netede



mici a  $\text{Ca}^{2+}$  urmată de activarea MLCK. Contractia lentă indusă de forbolesteri este asociată cu încorporarea  $^{32}\text{P}$  în proteinele filamentelor intermediare, și anume, desmina, ca și în caldesmonă. Un model similar de fosforilare s-a observat în timpul fazei tonice a contractiei indusă de carbacol.

## 2.6. Efectele nucleotidelor ciclice

### AMPc (adenozina 3', 5' – ciclic monofosfat)

Creșterea nivelului de AMPc, indusă de activarea adenilat ciclazei, a fost asociată cu relaxarea mușchiului neted aerian (HARRIS A. L., 1989; POHL J., 1991; BARNES P. J., 1995). Adenilat ciclaza are o structură monomerică cu două domenii intramembranare hidrofobe, legate printr-o buclă intracelulară. Fiecare domeniu este alcătuit din șase  $\alpha$ -helixuri. Situsurile catalitice se găsesc la nivelul buclei intracelulare și a capătului (-COOH) terminal. Se descriu opt tipuri de adenilat ciclază. Receptorii  $\beta$ -adrenergici sunt asociați cu tipul VIII de adenilat ciclază activată de proteina Gs, urmată de creșterea intracelulară a AMPc. Concentrația AMPc este reglată de fosfodiesteraze a căror activare se realizează în funcție de nivelul AMPc, dar și de cel al complexului  $\text{Ca}^{2+}$ – calmodulină. AMPc activează proteinkinaza A (PKA). Patru molecule de AMPc se fixează de subunitățile reglatoare ale PKA, iar subunitățile catalitice disociate fosforilează proteinele țintă intracelulare.

S-a demonstrat o creștere în activitatea PKA AMPc-dependentă în mușchiul traheal tratat cu izoproterenol și că adiția subunității catalitice a proteinkinazei relaxează mușchiul neted traheal de cobai contractat cu  $\text{Ca}^{2+}$ . Mecanismele prin care AMPc relaxează mușchiul neted sunt multiple:

- Scăderea  $\text{Ca}^{2+}$  este mecanismul fundamental prin care AMPc mediază relaxarea. Această ipoteză este suportată de demonstrația că stimularea beta-adrenergică inhibă hidroliza inozitolfosfaților indusă de histamină și carbacol.

- Reducerea  $\text{Ca}^{2+}$  apare prin scăderea influxului de  $\text{Ca}^{2+}$ , stimularea efluxului de  $\text{Ca}^{2+}$ , prin activarea schimbului  $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$  sau sechestrarea intracelulară de  $\text{Ca}^{2+}$ . Diminuarea  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular conduce la inactivarea MLCK, defosforilarea miozinei și relaxare.

A doua ipoteză se bazează pe observația că fosforilarea de către proteinkinaza AMPc-dependentă scade activitatea MLCK (GODARD P., 1990). MLCK poate fi fosforilată în două locuri de către proteinkinaza AMPc-dependentă, fosforilarea ambelor situsuri scade afinitatea MLCK pentru activarea complexului  $\text{Ca}^{2+}$  calmodulină.

AMPc induce și fosforilarea canalelor de  $\text{K}^{+}$ , activate de  $\text{Ca}^{2+}$ . Blocarea prin caribdotoxin și iberitoxin inhibă răspunsul bronhodilatator la beta-agoniști și la alți agenți, care cresc concentrația AMPc (BARNES P. J., 1994, BARNES P. J., 1995).

S-a demonstrat că o creștere a AMPc poate activa și PKG, care va reduce concentrația intracelulară a  $\text{Ca}^{2+}$  și poate contribui astfel, la efectele relaxante ale beta-agoniștilor mediate de PKA (BARNES P. J., 1995).

### **GMPc (guanozină 3', 5', monofosfat)**

GMPc este, de asemenea, cunoscut că relaxează mușchiul neted. Compuși ca nitroprusiatul, care cresc nivelul GMPc intracelular, relaxează mușchiul traheal de bovine și canine (DE LANEROLLE P., 1991). Sistemul de traducere al semnalului în relaxarea mușchiului neted de către EDRF, NO și donori de NO implică activarea guanilat ciclazei și producerea mesagerului secund GMPc (RAND M. J., 1995).

Studii asupra fibrelor denudate au demonstrat că adăugarea de GMPc sau proteinkinază GMPc-dependentă, relaxează fibrele contractile. Se consideră că acțiunea GMPc ar fi mediată prin activarea proteinkinazei GMPc-dependentă într-o manieră analogă activării proteinkinazei AMPc-dependentă. De fapt, un studiu a sugerat că proteinkinaza GMPc-dependentă poate fi mai importantă decât proteinkinaza AMPc-dependentă în relaxarea segmentelor traheale de cobai (FRANCISC S. H., 1988). Efectele GMPc, care conduc la relaxarea mușchiului neted, sunt exercitate prin activarea proteinkinazei GMPc-dependentă, cG-PKII, mai abundentă în creier și plămân (FRANCIS S. H., 1994). Dar, mecanismul de acțiune al GMPc nu pare a implica fosforilarea MLCK. Proteinkinaza GMPc-dependentă fosforilează numai situsul B și aceasta nu afectează activitatea MLCK.

Karaki și colab. au sugerat că nitroprusiatul poate să scadă sensibilitatea elementului contractil la  $\text{Ca}^{2+}$ .

Diferite studii au arătat că GMPc poate fi modulatorul nivelurilor intracelulare ale  $\text{Ca}^{2+}$ . Cornwell și Lincoln au arătat că introducerea proteinkinazelor GMPc-dependente, atenuază răspunsul contractil al celulelor musculare netede stimulate cu agoniștii contractili. Relaxarea mușchiului neted indusă de NO/GMPc, se realizează și prin activarea canalelor de  $\text{K}^+$  dependente de  $\text{Ca}^{2+}$ , ceea ce induce hiperpolarizarea și închiderea canalelor de  $\text{Ca}^{2+}$  voltaj dependente (GARTHWAITE J., 1995).

Contrația mușchiului neted este, ca în toți mușchii,  $\text{Ca}^{2+}$  activată. Totuși, responsivitatea la calciu poate varia într-un domeniu larg atât în mușchiul intact, cât și în structurile contractile izolate. Reglarea calciului este afectată printr-o multitudine de proteine reglatoare, incluzând lanțurile ușoare de miozină, calmodulină, caldesmonă și calponină. Fenomenul numit *latch* intrigă cel mai mult și a fost o problemă, chiar de când s-a realizat că mușchiul neted este unic în capacitatea sa de a menține tensiune pentru perioade prelungite, cu consum mic de energie.

Date fiind noile metode de analizare a mecanismelor reglatoare intracelulare, se așteaptă totuși un progres rapid în acest domeniu.



## BIBLIOGRAFIE

1. POPESCU L. M., *Țesutul muscular neted*. În Histologie Medicală vol. I, Ed. Diclescu I., ONICESCU D. Editura Medicală, București, 1987: 525–541.
2. MARTHAN R., STEPHENS N. L., *Mecanismes de l'hyperreactivite bronchique*. Rev. Mal. Resp., Masson, Paris, 1994, 11, 149–159.
3. DANIEL E. E., KANNAN M., DAVIS C., POSEY-DANIEL V., *Ultrastructural studies on the neuromuscular control of human tracheal and bronchial muscle*. Respir. Physiol. 1986, 63:109–123.
4. SMALL R. C., FOSTER R. W., *Electrophysiology of the airway smooth muscle cell*. In Asthma Basic Mechanisms and Clinical Management, Eds: Barnes P. J., Rodger I. W., Thomson N. C., Academic Press, London, 1988: 35–36.
5. KAMM K. E., STULL J. T., *Regulation of smooth muscle contractile elements by second messengers*. Annu. Rev. Physiol., 1989, 51:299–313.
6. HATHAWAY D. R., *Myosin light chain and heavy chain phosphorilation in smooth muscle: potential regulatory roles for calcium, phospholipids and cyclic nucleotides*. Biochem. Soc. Trans., 1988, 16:499–501.
7. KAMM K. E., HSU L. C., KUBOTA Y., STULL J. T., *Phosphorilation of smooth muscle myosin heavy and light chains*. J. Biol. Chem., 1989, 264: 21223–21229.
8. KAMM K. E., *Myosin light chain kinase and kinetics of myosin phosphorilation in smooth muscle cells*. In vol. 245: Regulation and Contraction of Smooth Muscle, Eds: Siegman M. J., Somlyo A. P. and Stephens N. L., Allan R., Liss Inc., New-York, 1987, 183–193.
9. STULL J. T., TANSEY M. G., TANQ D. C., WORD R. A., KAMM K. E., *Phosphorylation of myosin light chain kinase. A cellular mechanism for  $Ca^{2+}$  desensitization*. Mol. Cell. Biochem. 1993, 128:229–37.
10. GERTHOFFER W. T., *Regulation of the contractile element of airway smooth muscle*. Am. J. Physiol. (Lung Cell Mol. Physiol., 5), 1991, 261: L15–L28.
11. ISHIKAWA R., *Anncaling of gelsolin-severed actin fragments by tropomyosin in the presence of  $Ca^{2+}$ . Potentiations of the annealing process by caldesmon*. J. Biol. Chem., 1989, 264: 16764–16770.
12. POILL J., WALSH M. P., GERTHOFFER W. T., *Calponin and caldesmon phosphorilation in canine tracheal smooth muscle*. Biophys. J., 1991, 59:58a.
13. DE LANEROLLE P., PAUL R. J., *Myosin phosphorilation/dephosphorilation and regulation of airway smooth muscle contractility*. Am. J. Physiol., 1991, 261: 111–114.
14. WALSH M. P., *Caldesmon, a major actin and calmodulin-binding protein of smooth muscle*. In Regulation and Contraction of Smooth Muscle. Eds. Siegman M. J., Somlyo A. P., Stephens N. L., Alan R. Liss inc., 1987, 119–141.

15. WINDER S. J., WALSH M. P., *Calponin. Thin filament – linked regulation of smooth muscle contraction*. Cell. Signal 1993, 5, 677–86.
16. NECHIFOR M., DĂNILĂ GH., *Medicația musculaturii netede*. Centrala Ind. de Medica și Cosm. București, 1985.
17. DUGNIER C., *Calcium-calmoduline et vasomotricite. Des maladies du coeur et des vaisseaux*, 1991, 84 (sp. I): 25–34.
18. AKERMAN K. E. D., *Ca<sup>2+</sup> transport and cell activation*, Medical Biology, 1982, 60:168–182.
19. MARTHAN R., ARMOUR C. L., JOHNSON P., BLACK J. I., *Extracellularcalcium and human isolated airway muscle: ionophore A23187 induced contraction*, Respiration Physiology, 1988, 71:157–168.
20. BRAUNWALD E., *Mecanism of action of Calcium Channel-Blocking Agents*, The New England Journal of Medicine, 1982, 307, 26:1618–1627.
21. BREEMEN C., SAIDA K., *Celular mechanisms regulating Ca<sup>2+</sup> smooth muscle*, Annual Rev. Physiol., 1989, 51, 315–329.
22. BRUCE P. B., *Classes of calcium channels in vertebrate cells*, Annual Rev. Physiol, 1989, 51:367–384.
23. COBURN R. F., BARON C. B., *Coupling mechanisms in airway smooth muscle*, Am. J. Physiol. (Lung Cells Mol. Physiol), 1990, 258:L119–L133.
24. PETROIU A., SCHNEIDER F., MIHALAȘ G., ȘTEFĂNICĂ P., *Turnover-ul calciului miocitar (referat)*, Timișoara Medicală, 1991, 36, 1:1–8.
25. TSIEN R. W., ELLINOR P. T., HORNE W. A., *Molecular diversity of voltage dependent Ca<sup>2+</sup> channels*, Trends Physiol. Sci., 1991, 12:349–354.
26. DUPUIS B. A., ADAMANTIDIS M. M., *Canaux calciques cardiaques: propriétés générales et protection miocardique*, Simposium International, Paris, 1987, 1–22, publié par Excerpta Medica.
27. RAEBURN D., *Calcium Entry blocking Drugs: Their classification and sites of action in smooth muscle*, Medical Biology, 1987, 65,4:175–180.
28. BEAN B. P., *Classes of calcium channels in vertebrate cells*. Annu. Rev. Physiol., 1989, 51:367–384.
29. TIAHO F., NARGEOT J., RICHARD S., *Voltage dependent regulation of L-type cardiac Ca<sup>2+</sup> channels byisoproterenol*. Pflüger Arch., 1991, 419:596–602.
30. BOCKAERT J., *Les proteines G étendent leur pouvoir sur les canaux ioniques*. Medecine/Sciences, 1989, 5:562–569.
31. KUO C. C., BEAN B. G., *G-protein modulation of ion permeation through N-type calcium channels*. Nature, 1993, 365:258–262.
32. FOSSET M., JAIMOVICH E., DELPONT E., LAZDUNSKI M., *[3H] nitrendipine receptors in skeletal muscle*, J. Biol. Chem., 1983, 258:6086–6092.



65. SOMLYO A. P., SOMLYO A. V., *Signal transduction and regulation in smooth muscle*. Nature, 1994, vol. 372:231–236.
66. PFITZER G., RUEGG J. C., *Smooth muscle activation. Advances in Comparative and Environmental Physiology*, vol. 12, Ed. H. Sugi, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1992, 63–86.
67. ALLEN B. G., WALSH M. P., *The biochemical basis of the regulation of smooth-muscle contraction*. TIBS 19, Elsevier Science Ltd, 1994, 362–368.
68. PHOL J., WALSH M. P., GERTHOFFER W. T., *Calponin caldesmon phosphorylation in canine tracheal smooth muscle*. Biophys. J., 1991, 59:58a.
69. GODARD P., RAY P., et al., *Traitement de l'inflammation bronchique*. Rev. Prat. (Paris), 1992, 42 (19):2458–2463.
70. RAND M. J., LI C. G., *Nitric oxides as a neurotransmitter in peripheral nerves: Nature of Transmitter and Mechanism of Transmission*. Annu. Rev. Physiol., 1995, 57:659–682.
71. FRANCIS S. H., BRADLEY D. N., et al., *Relaxation of vascular and tracheal smooth muscle by cyclic nucleotide analogs that preferentially activate purified cGMP-dependent protein kinase*. Am. Soc. Pharm. Exp. Ther., 1988, 34:507–517.
72. FRANCIS S. H., CORBIN J. D., *Structure and function of cyclic nucleotide – dependent protein kinases*. Annu. Rev. Physiol., 1994, 56:237–272.
73. GARTHWAITE J., 1995, BOULTON C. L., *Nitric oxide signaling in the central nervous system*. Annu. Rev. Physiol., 1995, 57:683–706.



### 3. REGLAREA NERVOASĂ A CONTRACTILITĂȚII MUSCULATURII NETEDE TRAHEO-BRONȘICE

La nivelul căilor respiratorii sistemul nervos autonom îndeplinește numeroase funcții: modularea tonusului bronșic și volumul secrețiilor, controlul debitului sanguin și al permeabilității vasculare, cât și modularea eliberării de mediatori din mastocite (BARNES P. J., 1990).

Rolul sistemului nervos autonom a făcut obiectul a numeroase cercetări. Studiile din ultimii ani sugerează că structura sa este mult mai complexă și că tonusul bronhomotor și reactivitatea bronșică la iritanți este influențată de interacțiunea efectelor neurotransmițătorilor cu cea a mediatorilor inflamatori.

#### 3.1. Rolul sistemului nervos colinergic

Inervația parasimpatică colinergică reprezentată de nervii vagi constituie cel mai important sistem nervos bronhoconstrictor la om și animal. Rolul său în obstrucția bronșică se realizează prin mecanisme multiple. Densitatea inervației colinergice este mai mare în căile proximale și diminuează spre bronhiolele terminale (BARNES P.J., 1992b).

Căile aferente ale unui reflex colinergic constau din fibre mielinizate și fibre C nemielinizate, care au punct de plecare mai multe tipuri de receptori din căile aerifere. Sunt cunoscuți astfel **receptorii de distensie** (mecanoreceptori) ca terminații nervoase ale fibrelor mielinizate situate în căile respiratorii, responsabili de reflexul Hering-Breuer.

**Receptorii de iritație**, numiți și receptori de adaptare rapidă, de asemenea terminații nervoase ale fibrelor mielinizate situate între și sub celulele epiteliale, sunt sensibili la stimuli chimici cum ar fi gazele toxice sau la diverse particule inhalate. Stimularea lor antrenează o bronhoconstricție reflexă.

**Terminațiile fibrelor C** sunt nemielinizate și conțin neuropeptide. La pisică fibrele aferente nemielinizate sunt în raport de 3/1 cu cele mielinizate. Aceste fibre sunt stimulate selectiv de capsaicină, bradikinină și prostaglandine. Ele pot media



unele din efectele atribuite anterior receptorilor iritanți. Stimularea lor poate produce bronhoconstricție severă.

Fibrele postganglionare ale nervilor vagi, provenind din neuronii ganglionari situați în peretele bronșic, sunt scurte și inervează mușchiul neted și glandele submucoase. Acetilcolina eliberată de fibrele colinergice postganglionare activează receptorii muscarinici.

În plămânul uman s-au identificat trei subtipuri de receptori muscarinici  $M_1$ ,  $M_2$  și  $M_3$ , ce mediază diferite funcții în căile respiratorii incluzând neuromodulația (BARNES P. J., 1992a). În plămânul de iepure s-au mai descris două tipuri de receptori muscarinici  $M_4$  și  $M_5$ , dar care nu au putut fi identificați în plămânul uman (MARK J. C., 1992).

Agoniștii receptorilor  $M_1$ ,  $M_3$  și  $M_5$  stimulează prin intermediul proteinei Gq hidroliza fosfatidilinozitolului membranar ce va induce, prin  $IP_3$ , creșterea concentrației intracelulare a  $Ca^{2+}$ . Receptorii  $M_2$  și  $M_4$  inhibă adenilat ciclaza prin intermediul proteinei Gi (BARNES P.J., 1994).

**Receptorii  $M_1$**  sunt prezenți în glandele submucoase, la nivelul peretelui alveolar și la nivelul ganglionilor parasimpatici. Studii la animal *in vivo* și *in vitro*, cât și pe preparate de bronhie umană *in vitro* au demonstrat că prin stimulare vagală sau prin câmp electric se induce o secreție mucoasă. Utilizarea antagoniștilor specifici a permis să se demonstreze că receptorii implicați în această secreție sunt de tip  $M_1$  și respectiv  $M_3$ . Receptorii  $M_1$  sunt inhibați selectiv de pirenzepin. Transmisia stimulului la nivel ganglionar este asigurată de activarea receptorilor nicotinici de către acetilcolină. Activarea receptorilor de tip  $M_1$ , situați la acest nivel, are un rol facilitator asupra transmisiei parasimpatice. Mai mult, probabil că sunt responsabili de măsura filtrării stimulilor de la nivelul ganglionilor parasimpatici, fiind descriși și pe terminațiile nervoase simpatice. În traheea de cobai au rolul de a inhiba eliberarea noradrenalinei care modulează neurotransmisia colinergică în ganglion.

**Receptorii  $M_2$**  sunt localizați pe mușchiul neted bronșic în proporție redusă. În schimb, au fost puși în evidență la nivelul fibrelor parasimpatice postganglionare. Au rol în inhibarea eliberării de acetilcolină, limitând bronhoconstricția. Acești receptori sunt inhibați specific de galamină. Au fost demonstrați funcțional *in vitro* la cobai, iepuri și pisici, deoarece galamina potențează efectele bronhoconstrictoare ale stimulării nervului vag, fără a induce un efect echivalent la perfuzia cu acetilcolină.

Activarea receptorilor muscarinici  $M_2$  din fibrele colinergice postganglionare antrenează o inhibiție a contracției colinergice a mușchiului neted bronșic indus prin câmp electric. Astfel, s-a descris un feed-back al eliberării de acetilcolină, prin însăși acetilcolina eliberată, care activează autoreceptorii  $M_2$  localizați pe

terminațiile colinergice din căile aerifere și limitează propria eliberare (BARNES P. J., 1996).

**Receptorii  $M_3$**  sunt prezenți în număr mare la nivelul fibrei musculare netede a bronhiilor mari. Densitatea lor diminuează în căile aerifere mici și sunt aproape absenți în bronhiiolele terminale. Au fost, de asemenea, identificați la nivelul epitelului bronșic, glandelor submucoase și a vaselor bronșice (MARK J. C., 1992). Receptorii  $M_3$  mediază contracția mușchiului neted al căilor respiratorii, vasodilatația și secreția de mucus. Reprezintă cea mai mare proporție de receptori muscarinici (JANSSEN L. J., 1990). Mediază toate efectele postganglionare ale acetilcolinei. *In vitro*, la animal, bronhoconstricția indusă prin agoniștii colinergici a fost observată la trahee și bronhiile mari, fiind mediată de receptori  $M_3$  (BARNES P. J., 1992a).

#### *Efectele sistemului nervos colinergic*

- **Bronhoconstricția**, mediată prin receptorii  $M_3$ , este evidențiată în prezența agoniștilor muscarinici de tipul carbacolului și a metacolinei. Efectul bronhoconstrictor este amplificat de anticolinesteraze și este deprimat de antagoniștii muscarinici. *In vitro*, contracția colinergică a mușchiului neted bronșic, indusă de stimularea în câmp electric este mai puternică la bronhiile mari decât la bronhiiole; datele experimentale fiind în concordanță cu localizarea receptorilor  $M_3$ .

- **Hipersecreția de mucus** a fost evidențiată *in vivo* și *in vitro* în urma stimulării vagale sau în câmp electric. Cu ajutorul agoniștilor specifici, s-a stabilit că subtipurile de receptori muscarinici implicați în această secreție sunt  $M_3$  și  $M_1$ .

- **Neuromodularea** prin receptori colinergici are mai multe caracteristici. În primul rând, transmisia ganglionară în căile respiratorii este asigurată de activarea receptorilor nicotinici și este mediată de acetilcolină. Activarea receptorilor  $M_1$ , localizați la acest nivel, joacă un rol facilitator asupra transmisiei parasimpatice. Spre deosebire de receptorii nicotinici, care au rol în controlul neurotransmisiei „rapide”, receptorii  $M_1$  intervin în controlul cronic al transmisiei ganglionare (BARNES P. J., 1992b).

Prin receptorii  $M_2$  localizați pe fibrele ganglionare, se realizează retrocontrolul eliberării acetilcolinei prin însăși acetilcolina eliberată care activează acest tip de „autoreceptor”.

### 3.2. Sistemul adrenergic

Plămânul uman, contrar altor specii animale, nu conține decât foarte puține fibre nervoase simpatice (BARNES P. J., 1986). Fibrele postganglionare din ganglionul cervical mijlociu și inferior pătrund în hil cu nervii colinergici, formând un plex în jurul căilor respiratorii și al vaselor. În contrast cu densitatea nervoasă parasimpatică, inervația simpatcă este, în general, rară și prezintă variații mari între



specii. Richardson, într-o lucrare din 1976, arăta că inervația simpatică a mușchiului neted respirator este practic inexistentă (MICHOU C., 1994).

Prezența fibrelor simpatice a fost demonstrată la nivelul vaselor bronșice, glandelor submucoase și în ganglionii parasimpatici. Terminațiile nervoase simpatice conțin, alături de noradrenalină, un comediator, neuropeptidul Y și encefalina ce se eliberează împreună cu noradrenalina.

**Receptorii  $\beta$  adrenergici** sunt  $\beta_1$  și  $\beta_2$ , proporția lor variind la diversele specii. Receptorii  $\beta_3$ , foarte diferiți de  $\beta_1$  și  $\beta_2$  (omologie 50%), corespund cu  $\beta$ -receptorii „atipici” descriși în țesutul adipos și s-au evidențiat și la nivelul căilor respiratorii (KRIF S., 1993).

Deși, inițial,  $\beta$ -receptorii mușchiului neted al căilor respiratorii au fost identificați ca  $\beta_2$ , studii ulterioare, utilizând tehnici de legare direct de receptor și antagoniști  $\beta$  selectivi, au confirmat coexistența  $\beta_1$  și  $\beta_2$ , cu un raport  $\beta_1/\beta_2$  de aproximativ 1/3.

**Receptorii  $\beta_2$**  sunt prezenți în celulele musculare netede respiratorii de la trahee la bronhiiolele terminale, în celulele epiteliale, pneumocite, celulele Clara și glandele submucoase, mastocite, de asemenea, pe celulele endoteliale și celulele musculare netede vasculare. În plus, studii farmacologice sugerează prezența receptorilor  $\beta_2$  la nivelul ganglionilor parasimpatici intramurali, pe fibrele colinergice postganglionare și pe nervii senzitivi.

Studii funcționale paralele pe același țesut *in vitro* arată că relaxarea la  $\beta$ -agoniștii exogeni este mediată de receptorii  $\beta_2$ , în timp ce relaxarea la stimularea nervoasă simpatică este mediată de receptori  $\beta_1$ . Aceste observații sunt în acord cu ipoteza că receptori  $\beta_1$  sunt reglați de nervii simpatici ( $\beta$ -receptori inervați), în timp ce receptorii  $\beta_2$  sunt reglați de adrenalina circulantă ( $\beta$ -receptori hormonal).

$\beta$ -agoniștii acționează ca „antagoniști funcționali” și inhibă sau reversează răspunsurile contractile ale diversilor stimuli: LTD<sub>4</sub>, histamină, acetilcolină și bradikinină.

Mecanismul intracelular implicat în medierea efectelor relaxante ale  $\beta$ -agoniștilor au fost foarte mult investigate.  $\beta$ -receptorii stimulați, prin creșterea concentrației intracelulare a AMPc, activează PKA care acționează fosforilând proteinele țintă. Astfel în mușchiul neted al căilor respiratorii PKA inhibă fosforilarea lanțurilor ușoare ale miozinei, inhibă hidroliza PIP<sub>2</sub>, stimulează schimbul Ca<sup>2+</sup>/Na<sup>+</sup>, ceea ce duce la scăderea concentrației intracelulare a Ca<sup>2+</sup> și, de asemenea, stimulează ATP-aza Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>. Aceste efecte sunt observate numai la concentrații relativ ridicate de  $\beta$ -agonist.

Un efect important al  $\beta$ -agoniștilor este reprezentat de închiderea canalelor K<sub>Ca</sub>, observat la concentrații scăzute ale acestora *in vitro* pe căi respiratorii umane, sugerând a fi mecanismul major al relaxării mușchiului neted bronșic la  $\beta$ -agoniști.

Aceasta ar explica de ce forskolin-ul, care crește foarte mult concentrația intracelulară a AMPc, are un efect slab relaxant al căilor respiratorii.  $\beta$ -agoniștii au, de asemenea, efecte inhibitorii asupra proliferării induse de factorul de creștere epidermal și de agonistul  $\alpha_2$  clonidină, sugerând că pot contracara remodelarea structurală a căilor respiratorii în astmul bronșic (BARNES P.J., 1995).

Glandele submucoase care primesc o inervație simpatică difuză au o populație mică de receptori  $\beta_1$  (10%), majoritatea fiind  $\beta_2$  și a căror stimulare induce creșterea secreției.

$\beta$ -receptorii epiteliali sunt de subtipul  $\beta_2$ .  $\beta$ -agoniștii stimulează transportul ionului de clor și secreția apei, rezultând un clearance mucociliar crescut, efectul fiind mai intens când acesta este deja scăzut, ca în astm. Unele studii pe căi respiratorii animale au demonstrat că izoproterenolul este un relaxant mai eficient în prezența celulelor epiteliale intacte, sugerând că  $\beta$ -agoniștii intervin în eliberarea, de către acestea, a unui factor relaxant.

Celulele Clara, prezente în epiteliul uman bronhiolar sunt stimulate de  $\beta$ -agoniști ca și pneumocitele de tip II, care secretă surfactant. Mastocitele, macrofagele și eozinofilele prezintă numai receptori  $\beta_2$ .

$\beta$ -agoniștii inhibă eliberarea de mediatori din celulele mastocitare, eliberare indusă de antigene pe fragmente de plămân uman *in vitro*. Iar *in vivo* un  $\beta$ -agonist previne creșterea histaminei plasmatice după provocare antigenică, sugerând că o concentrație terapeutică de  $\beta$ -agoniști poate inhiba eliberarea mediatorilor mastocitari. Edemul indus de histamină în căile respiratorii de cobai este redus prin pretratament cu un  $\beta$ -agonist, sugerând că  $\beta$ -receptorii pot regla permeabilitatea microvasculară bronhială. Nu sunt evidențe că  $\beta$ -agoniștii reversează edemele căii aerifere, deși ei sunt capabili de prevenirea dezvoltării lor.

$\beta$ -agoniștii pot, de asemenea, modula neurotransmisia colinergică la nivelul ganglionilor colinergici sau la terminațiile nervoase. Se presupune că acesta ar fi un loc important de acțiune pentru  $\beta$ -agoniști în astmul bronșic. *In vitro*, pe bronhie de cobai,  $\beta$ -agoniștii inhibă răspunsul excitator non-adrenergic non-colinergic. Modularea este mediată prin receptori  $\beta_2$  și  $\beta_3$  ai fibrelor senzitive (BARNES P. J., 1995).

Mecanismele de control ale expresiei receptorilor  $\beta$ -adrenergici se referă la un mecanism rapid, ce constă în decuplajul funcțional sau desensibilizarea receptorilor prin scăderea afinității față de ligand și un mecanism lent de reglare negativă sau internalizare, degradare și control transcripțional al receptorilor, cu scăderea numărului de receptori  $\beta$ -adrenergici exprimați pe suprafața celulară. Desensibilizarea are la bază fosforilarea capătului COOH- terminal la nivelul resturilor serină-treonină sub acțiunea  $\beta$ -kinazei receptorului adrenergic ( $\beta$ -ARK) și a buclei I3 sub acțiunea PKA. Aceste fosforilări cresc abilitatea unei alte proteine –  $\beta$  arrestină – de a se fixa pe această extremitate și de a împiedica interacțiunea cu proteina G.





**Receptorii  $\alpha$  adrenergici** sunt clasificați, după proprietățile farmacologice, în două subtipuri:  $\alpha_1$  și  $\alpha_2$ . În plămânul uman există puțini receptori  $\alpha$ -adrenergici.

Receptorii  $\alpha_1$  sunt localizați pe vasele pulmonare și, de asemenea, par să existe pe celulele epitelului bronșic. Studii farmacologice sugerează prezența receptorilor  $\alpha_2$  la nivelul glandelor submucoase, ganglionilor parasimpatici intramurali, pe fibrele nervoase colinergice și fibrele C senzitive (BARNES P. J., 1992a).

Stimularea  $\alpha$ -adrenergică crește secreția de mucus și produce o contracție a mușchiului neted respirator numai dacă țesuturile au fost contractate în prealabil cu histamină sau serotonină. S-a observat că prazosinul – un  $\alpha$ -antagonist cu o mare selectivitate pentru  $\alpha_1$  – determină bronhodilatare după administrarea orală. Inhalat nu a avut efect bronhodilatator la subiecții astmatici și nici un efect asupra bronhoconstricției indusă de histamină, dar a realizat o protecție parțială împotriva bronhoconstricției indusă de efort, sugerând implicarea  $\alpha_1$  receptorilor în acest răspuns (BARNES P. J., 1988).

Mecanismul prin care  $\beta$ -blocantele produc bronhoconstricție este nesigur. Probabil apare o eliberare crescută de acetilcolină în vecinătatea fibrelor musculare netede. La subiecții normali aceasta n-ar avea efecte detectabile asupra funcției căilor aerifere, dar la astmatici produce bronhoconstricție, aceștia fiind hiperresponsivi la acetilcolină.

Deoarece  $\beta_2$ -agoniștii atenuează bronhospasmul, a fost logic să se sugereze că la baza hiperresponsivității bronșice ar putea fi un defect al funcției  $\beta$ -receptorilor. Dar blocarea cronică a  $\beta$ -receptorilor nu produce astm bronșic sau hiperresponsivitate la subiecți normali. Totuși, numeroase studii avansează ideea unei „scăderi” a funcției  $\beta$ -receptorilor secundară bolii, ca rezultat al eliberării de mediatorii inflamatori. Procesul inflamator local ocupă un loc primordial în patogenia astmului prin multitudinea de mecanisme în care este implicat. S-a evidențiat că mediatorii inflamației ca leucotriene  $LC_4$ ,  $LB_4$ , PAF sau speciile reactive ale oxigenului pot afecta funcția  $\beta$ -receptorilor și explică rezistența la tratamentul cu  $\beta$ -agoniști a unor forme de astm bronșic (MICHOU M.C., 1994). Mecanismul de acțiune al mediatorilor inflamatori se declanșează în urma activării unor receptori specifici din fibra musculară netedă traheo-bronșică, urmată de activarea hidrolizei fosfoinozitudelor și generarea de DAG. Acesta activează proteinkinaza C, care poate fosforila atât receptorul  $\beta_2$ , cât și subunitatea  $\alpha$  a proteinei Gs, rezultatul fiind blocarea cuplării receptorului cu adenilat ciclaza sau fenomenul de down-regulation (BLACK I. L., 1996). Un mecanism similar de alterare a funcției receptorului  $\beta$  poate fi indus și de acetilcolină (BARNES P. J., 1995). Un defect al  $\beta$ -receptorilor se poate întâlni nu numai la nivelul mușchiului neted al căilor respiratorii, înclinând balanța în favoarea constricției colinergice și posibil  $\alpha$ -adrenergice, dar, de asemenea, ar

crește eliberarea de mediatori mastocitari și tendința de a dezvolta edeme ale peretelui bronșic. Și neuromodularea din ganglionii parasimpatici poate fi afectată de mediatori eliberați de celulele mastocitare care înconjoară acești ganglioni.

### 3.3. Sistemul non-adrenergic non-colinergic

Pe lângă sistemele clasice, adrenergice și colinergice, un rol deosebit revine unei a treia entități: sistemul non-adrenergic, non-colinergic (NANC). Insensibil la antagoniștii colinergici și adrenergici, reprezintă un sistem complex capabil să inducă alternativ bronhoconstricție și bronhodilatație, vasoconstricție și vasodilatație modulând producerea de mucus, prin intermediul mai multor neuropeptide cu rol de neurotransmițători. În același timp pot juca rol important ca modulatori ai neurotransmisiei în căile respiratorii. Acționează ca și mediatori ai nervilor autonomi din căile respiratorii și pot induce amplificarea sau inhibarea efectelor mediatorului primar.

#### 3.3.1. Sistemul NANC excitator

Existența sistemului nervos NANC excitator în căile respiratorii a fost evidențiată la cobai, *in vitro*, când stimularea bronhiilor prin câmp electric sau a nervilor vagi *in vivo* a indus o bronhoconstricție neinhibată de antagoniști colinergici sau adrenergici, dar a fost blocată prin tetrodoxină, indicând astfel natura sa neurală (ANDERSSON R. G., 1983).

Această bronhoconstricție a mai fost abolită printr-un pretratament cu capsaicină, substanță care induce depleția de neuropeptide din fibrele C senzitive. O parte a acestora conțin neuropeptide, dintre care principalele sunt **tahikininele**: substanța P (SP), neurokininele A (NKA), peptidul derivat din gena calcitoninei (CGRP) și peptidul eliberator de gastrină.

Lundberg J.M. descrie o imunoreactivitate a SP în fibrele senzitive ce inervează adventicea vaselor, epiteliul bronșic, fibrele musculaturii netede bronșice și ganglionii parasimpatici (MICHOU M. C., 1994). Mai multe studii au demonstrat că în plămânul uman și cobai, receptorii marcați prin SP iodată sunt prezenți în număr mare pe mușchiul neted bronșic de la trahee la bronhiole și pe epiteliu bronșic și glandele submucoase. Receptorii pentru NKA sunt prezenți pe mușchiul neted bronșic. Efectele tahikininelor sunt legate prin activarea C-terminală de receptorii specifici: NK-1 pentru SP și NK-2 pentru NKA (FROSSARD N., 1991).

Traducerea semnalului de către receptorii specifici se realizează prin activarea fosfolipazei C și sinteza de inozitol-1, 4, 5 P<sub>3</sub> (IP<sub>3</sub>), urmată de creșterea intracelulară a calciului (DRAZEN J. M., 1995). Substanța P mai poate avea și efecte legate de extremitatea N-terminală activând un situs membranar, diferit de receptorii pentru tahikinină, care ar putea fi o proteină G.





Studii *in vitro* au demonstrat că neurokinina A și agoniștii selectivi de NK-2 induc o contracție a mușchiului neted bronșic mai puternică decât SP, iar antagoniștii selectivi NK-2 blochează acest efect. Antagoniștii receptorilor NK-1 și NK-2 atenuează obstrucția căilor respiratorii produsă de bradikinină la astmatici, ceea ce sugerează că tahikininele pot contribui la bronhospasmul indus de acest peptid (DRAZEN J. M., 1995).

În schimb, efectele induse pe vasele bronșice, studiate *in vivo* și *in vitro* la animale, constând în relaxarea acestora și creșterea permeabilității se datoresc, în special, substanței P. Aceasta stimulează și secreția de mucus din glandele calciforme și glandele submucoase. Cele mai complexe efecte sunt realizate asupra celulelor inflamatorii. Astfel SP induce o eliberare de radicali liberi, prin activarea receptorilor NK-1 ale polimorfonuclearelor neutrofile (PMN). Prin fragmentul N-terminal, activând un situs diferit de receptor, crește fagocitoza PMN.

*In vitro* SP a accentuat efectul chemotactic indus de PAF și de leucotriena B<sub>4</sub> asupra eozinofilelor.

Rolul produșilor mastocitari: histamina, leucotrienele LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> și a factorului activator plachetar (PAF) în eliberarea SP și NKA în căile respiratorii a constituit subiectul a numeroase studii. Astfel, răspunsul bronhoconstrictor la histamină a fost găsit scăzut la cobaii pretratați cu capsaicină, ce a indus depleția de tahikinine (DRAZEN J. M., 1995). De asemenea, tot la animale pretratate cu capsaicină poate fi prevenită hiperreactivitatea indusă de PAF (PERRETTI F., 1993). Pe preparate de cobai, antagoniștii receptorilor de tahikinine scad, iar inhibitorii endopeptidazei cresc răspunsul contractil la LTD<sub>4</sub>.

Rolul tahikininelor în eliberarea produșilor mastocitari, ca și stimularea prin leucotriene și histamină a tahikininelor au condus la evidențierea interacțiunii dintre fibrele C și mastocite. În experimentele pe bronhie izolată de cobai cu nervul vag intact, stimularea nervoasă a avut un efect bifazic. Prima fază este mediată colinergic, iar a doua fiind abolită prin tratament cu doze mari de capsaicină, s-a considerat că este mediată de fibrele C (ELLIS J. L., 1991). Diferit față de piele, în plămânul uman, SP nu induce eliberarea de histamină, deși mastocitele se găsesc în apropierea fibrelor C din căile aerifere. Tahikininele sunt degradate în căile respiratorii prin enzima de conversie a angiotensinei, localizată pe endoteliul vascular și prin endopeptidaza neutră de la nivelul epiteliului bronșic (BARNES P. J., 1996).

Amplificarea efectelor SP și NKA a fost observată *in vitro* pe preparate cu epiteliu denudat. Același lucru se poate întâlni într-o distrucție parțială a epiteliului descrisă în astm sau într-o infecție virală (BORSON D. B., 1991).

Rolul tahikininelor în hiperreactivitatea bronșică la subiecții atopici a fost evidențiat prin inducerea unei bronhoconstricții puternice. Măsurând modificările înregistrate pe curba flux-volum, NK este de 10–100 ori mai bronhoconstrictoare la astmatici față de subiecții normali (CHEUNG D., 1993). În plus, prin mecanismul de facilitare colinergică, crește eliberarea de acetilcolină la nivelul fibrelor postganglionare, care va exacerba efectul bronhoconstrictor. Inflamația cronică

determină creșterea producției de tahikinine și, în plus, prin factorul de creștere al nervilor (*nerve growth factor*) favorizează proliferarea nervilor senzitivi.

**Peptidul generat din gena calcitoninei (CGRP)** a fost colocalizat cu SP în fibrele C senzitive la om și la animal, dar poate fi prezent și în fibre care nu conțin SP și în celule neuroendocrine localizate în epiteliul bronșic (BARNES P.J., 1991). CGRP se leagă de receptorii de suprafață specifici localizați pe vasele bronșice, mușchiul neted și epiteliul bronșic. CGRP are un tropism preferențial vascular. Este puțin probabil să producă bronhoconstricție, dar are efect vasodilatator, fără a induce creșterea permeabilității vasculare. S-a descris și un efect anti-inflamator prin inhibarea proliferării limfocitelor T, scăderii activării acestora de către macrofage (MICHOU M. C., 1994).

**Peptidul eliberator de gastrină (GRP)** la mamifere este echivalentul bombesinei la amfibieni. O imunoreactivitate pentru GRP a fost localizată în celulele neuroendocrine a căilor respiratorii la om și animal, la nivelul fibrelor C senzitive învâlcând vasele și glandele submucoase. Locurile sale de fixare au fost identificate pe epiteliul bronșic și la nivelul glandelor submucoase din trahee. Este un puternic bronhoconstrictor la cobai, *in vivo*, dar nu contractă mușchiul neted al căilor respiratorii *in vitro*, sugerând existența unui mecanism indirect de acțiune. Efectul este redus de atropină și neinfluențat de capsaicină, indicând o implicare a răspunsului nervos colinergic.

Sintetizând rolul tahikininelor sunt de subliniat următoarele aspecte:

- Eliberarea acestor neuropeptide se realizează prin „**reflexul de axon**”.

După excitarea terminațiilor nervoase senzitive situate în epiteliul bronșic, fibrele nervoase NANC sunt capabile prin conducere retrogradă să elibereze diverse tahikinine și să inducă printr-un fel de scurt-circuit local: bronhoconstricție, creșterea permeabilității vasculare și hipersecreției de mucus.

În condiții fiziologice aceste tahikinine sunt rapid degradate prin enzime ca endopeptidaze neutre sau enkefalinaze localizate în epiteliul bronșic (NADEL J. A., 1991). Descuamarea epiteliului observată în astm, are drept consecință un catabolism scăzut al tahikininelor și astfel apare o amplificare a efectelor lor. Infecțiile virale ale căilor respiratorii, substanțele oxidante, și fumul de țigară au aceleași efecte.

- Tahikininele sunt capabile să acționeze direct pe o serie de celule ce vor elibera mediatori inflamatori. Descuamația epiteliului, cu pierderea enkefalinazelor induce pe cale retrogradă o secreție locală crescută de neuropeptide eliberate prin reflexul de axon, antrenând o exacerbare a reacției inflamatorii bronșice și acreditează noțiunea de inflamație neurogenă (BARNES P.J., 1990; TONNEL A. B., 1992).

### 3.3.2. Sistemul NANC inhibitor

Realizează o relaxare a fibrelor mușchiului neted bronhial având ca posibili candidați pentru neurotransmitere polipeptidul intestinal vasoactiv (VIP), oxizii de azot ( $\text{NO}_x$ ) și purinele (BELVISI M.G., 1992).



### **Polipeptidul intestinal vasoactiv (VIP)**

Studii electronomicroscopice au arătat că VIP poate fi prezent în nervii colinergici ai căilor respiratorii, deci ar fi un cotransmițător al acetilcolinei. VIP reduce efectul contractil al acetilcolinei *in vitro* și poate acționa ca un mecanism de „braking” al bronhoconstricției colinergice (BARNES P. J., 1992). VIP are un efect inhibitor important asupra răspunsului contractil la stimularea în câmp electric, mai important decât cel legat de acetilcolina exogenă în experimentele pe trahee de cobai, ceea ce sugerează că VIP poate reduce eliberarea de acetilcolină din terminațiile nervoase postganglionare. VIP relaxează bronhiile umane *in vitro* și este aproape de 100 de ori mai potent decât izoprenalina, fiind mediatorul bronhodilatator endogen cel mai puternic (PALMER J. B., 1986).

Mecanismul de acțiune intracelulară se realizează prin activarea de către receptorii VIP a proteinei Gs, ce induce creșterea AMPc (BARNES P. J., 1994).

VIP are, de asemenea, efect inhibitor asupra eliberării de peptide din terminațiile nervoase senzitive. Unele studii arată că pretratamentul preparatelor tisulare cu enzime proteolitice, capabile să inactiveze VIP, scad amplitudinea relaxării induse de NANCi (BELVISI M.G., 1992).

VIP este foarte sensibil la enzime proteolitice. Rapida sa degradare prin trip-tază, mediator al mastocitelor, facilitează apariția bronhospasmului (TONNEL A.B., 1992). Și  $\alpha$ -chimotripsina, care degradează rapid VIP endogen, are efecte similare.

### **Oxizii de azot ( $\text{NO}_x$ )**

$\text{NO}_x$  pot fi sintetizați enzimatic și eliberați de terminațiile nervoase ale sistemului nervos central și de terminațiile nervoase colinergice din căile respiratorii.

Oxidul nitric (NO) este produs prin transferul a cinci electroni de la azotul guanidinic al L-argininei către oxigenul molecular, transfer catalizat de NO-sintaze (NOS). Au fost izolate și clonate mai multe izoforme distincte ale NOS. Izoformele NOS constitutive (cNOS) cum ar fi cele găsite în celulele epiteliale și țesutul nervos sunt rapid activate de stimuli ca acetilcolina și bradikina, care acționează prin legarea calmodulinei mediată de calciu. Formele inductibile (iNOS), ca cele izolate din macrofage, sunt reglate la nivelul transcripției și nu sunt dependente de calciu pentru activare. Aceasta este indusă de citokine și endotoxine, iar sinteza lor este inhibată de glucocorticoizi (DRAZEN, J.M., 1995).

NOS se găsesc într-o varietate de tipuri celulare pulmonare incluzând celule epiteliale, macrofage, neutrofile, mastocite, neuroni, fibroblaști, celule musculare netede și celule endoteliale vasculare. Producții endogeni ai oxidării azotului pot fi molecule ca S-nitrozotoli (RS-NO), ce realizează relaxarea mușchiului neted din căile aerifere sau peroxinitriții ( $\text{OONO}^-$ ), ce pot induce leziuni tisulare. Contractiile mușchiului neted din căile respiratorii umane sau de cobai induse de histamină și leucotriena  $\text{D}_4$  sunt reversate de RS-NO (GASTON B., 1994).

Concentrația  $\text{NO}_x$  necesară pentru a induce relaxarea bronșică la om sau cobai este comparabilă cu a teofilinei sau izoproterenolului (GASTON B., 1994; JANSSEN A., 1992).  $\text{NO}_x$  relaxează mușchiul neted bronșic dependent de originea

speciei, de mărimea bronhiei și de integritatea epiteliului bronșic. De exemplu relaxarea bronșică a unor preparate de bovine produsă de NO<sub>x</sub> exogeni, din nitroglicerină și nitroprusiat, este mai intensă în zona proximală decât în cea distală. RS-NO este mai puternic relaxant al traheei de cobai decât al traheei de canine sau a bronhiei umane. NO dizolvat relaxează traheea de cobai mai puternic pe preparate cu epitelu denudat decât în preparate cu epitelu intact.

În ceea ce privește mecanismul de acțiune, legarea NO de guanilat ciclază determină activarea enzimatică, ce traduce efectul la nivel celular. Pe preparate traheale de canine și cobai, inhibitori ai guanilat ciclazei reduc relaxarea indusă de RS-NO (JANSSEN A., 1992).

S-a demonstrat că inhibiția sintezei de NO determină o potențare marcată a bronhoconstricției colinergice la cobai *in vitro* (BELVISI M. G., 1991). Anionii super-oxid produși de celulele inflamatorii activate, pot duce la o degradare rapidă a NO. Aceasta poate antrena răspunsuri colinergice exagerate, ca în astmul sever acut (BELVISI M. G., 1992). Radicalul NO, foarte reactiv, prezent în aerul expirat la om, iepure și cobai are un rol bine determinat ca relaxant al mușchiului neted bronșic. Efectele NO<sub>x</sub> s-au evidențiat în menținerea tonusului bazal al căilor respiratorii atât ca mediator al bronhodilatației NANCi, cât și ca modulator al bronhoconstricției (DRAZEN J. M., 1995).

## BIBLIOGRAFIE

1. BARNES P. J., *Neuropeptides as modulators of airway function. In AAS 31: Mediators in Airway Hyperreactivity*. Eds.: Nijkamp E. et al. Birkhauser Verlag, Basel, 1990: 175–196.
2. BARNES P. J., *Modulation of neurotransmission in airways*. *Physiological Reviews*, 1992a, 72: 699–729.
3. BARNES P. J., *Neural mechanisms in asthma*. *British Medical Bulletin*, 1992b, 48: 149–168.
4. MARK J. K., BARANIUK J. N., BARNES P. J., *Localization of muscarinic receptor subtypes mRNAs in human lung*. *Am. J. Resp. Cell Mol. Biol.*, 1992, 7: 344–348.
5. BARNES P. J., *Respiratory Pharmacology*. In *Text Book of Respiratory Medicine*, ed. II, Eds. Murray J. F. and Nadel M., W. B. Saunders Company, vol. I, 1994, 251–270.
6. BARNES P. J., *What is the role of nerves in chronic asthma and symptoms*. *Resp. Crit. Care Med.*, suppl. 1996, 153: S5–S8.
7. IANSEN L. J., DANIEL E. E., *Pre- and postjunctional muscarinic receptors in canine bronchi*. *Am. J. Physiol.* 3, 1990, 259: L304–314.
8. BARNES N., PIPER P. J., *The actions of leukotrienes in human lung in vitro and in vivo. In The Leukotrienes: Their Biological Significance*. Raven Press, New York, 1986, 199–212.
9. MICHOD M. C., FAJAC I., FROSSARD N., *Hyperreactivite bronchique: facteurs neurogenes*. *Rev. Mal. Resp.*, 1994, 11: 131–140.





10. KRIFF S., LONNQVIST F. et al. *Tissue distribution of beta3-adrenergic receptor mRNA in man*. J. Clin. Invest., 1993, 91: 344–349.
11. BARNES P. J., *Adrenergic regulation of airway function*. In *The Airways Neural Control in Health and Disease*, vol. 33, Eds. Kaliner M. A., Barnes P. J., Marcel Dekker Inc., New York, 1988: 57–85.
12. BARNES P.J., *Beta-adrenergic receptors and their regulation*. Am. J. Resp. Crit. Care Med., 1995, 152: 838–860.
13. BLACK J. L., *Role of Airway Smooth Muscle*. Resp. and Crit. Care Med., 1996, 153: S2–S4.
14. ANDERSSON R. G., GRUNDSTROM N., *The excitatory noncholinergic, nonadrenergic nervous system of the guinea pig airways*. Eur. J. Resp. Dis., 1983, Suppl. 131: 141–157.
15. FROSSARD N., ADVENIER C., *Tachykinin receptors and the airways*. Life Sci., 1991, 49: 1941–1953.
16. DRAZEN J.M., GASTON B., SHORE S., *Chemical regulation of pulmonary airway tone*. Annu. Rev. Physiol., 1995, 57: 151–170.
17. PERRETTI F., MANZINI S., *Activation of capsaicin-sensitive sensory fibres modulates PAF-induced bronchial hyperresponsiveness in anesthetized guinea pigs*. Am. Rev. Respir. Dis., 1993, 148: 927–931.
18. ELLIS J. L., UNDEM B. J., *Role of peptidoleukotrienes in capsaicin-sensitive sensory fibre-mediated responses in guinea pig airways*. J. Physiol., 1991, 436: 469–484.
19. BORSON D. B., *Roles of neutral endopeptidase in airways*. Am. J. Physiol., 1991, 260: L212–L225.
20. CHEUNG D., TIMMERS M. C., et al., *Neutral endopeptidase activity and airway hyperresponsiveness to neurokinin A in asthmatic subjects in vivo*. Am. Rev. Respir. Dis., 1993, 148: 1467–1473.
21. BARNES P. J., BARANIUK J. N., BELVISI M. G., *Neuropeptides in the respiratory tract*. Am. Rev. Respir. Dis., 1991, 144: 1187–1198.
22. NADEL J. A., *Neutral endopeptidase modulates neurogenic in Eur. Resp. J.*, 1991, 4: 745–754.
23. BELVISI M. G., STRETTON D. et al., *Inhibitory NANC nerves in human tracheal smooth muscle: a quest for the neurotransmitter*. J. Appl. Physiol., 1992, 73: 2505–2510.
24. PALMER J. B., CUSS F. M. C., BARNES P. J., *VIP and PHM and their role in nonadrenergic inhibitory response in isolated human airways*. J. Appl. Physiol., 1986, 61: 1322–1328.
25. GASTON B., DRAZEN J. M., et al., *Relaxation of human bronchial muscle by S-nitrosothiols in vitro*. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1994, 268: 978–994.
26. JANSSEN A., DRAZEN J. M., et al., *The relaxant properties in guinea pig airways of S-nitrosothiols*. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1992, 261: 154–160.
27. BELVISI M. G., STRETTON D., BARNES P. J., *Nitric oxide modulates cholinergic neurotransmission in guinea pig tracheal smooth muscle*. Eur. J. Pharmacol., 1991, 198: 219–221.

## 4. ROLUL CELULARITĂȚII CĂILOR AERIFERE ÎN MODULAREA BRONHOMOTRICITĂȚII

Reactivitatea musculaturii netede bronhice este dependentă de mediul intern local și de proprietățile fizico-chimice și compoziția acestuia. Plasma interstițială este dependentă de irigația sanguină, dar și de totalitatea celulelor care beneficiază de schimburi în teritoriul respectiv. În acest sens, se cunoaște relația existentă între metabolism și funcție la nivel tisular, o parte din substanțele rezultate din metabolism participând la reglarea propriei activități (HAULICĂ I., 1983; SCHNEIDER F., 1977). Este vorba de hormoni locali, factori autacoizi, care, alături de mediatorii chimici și hormonii circulanți, intervin în reglarea excitabilității și modularea tonusului bronhomotor atât direct, cât și indirect, prin influențarea metabolismului celular. Din punct de vedere chimic, natura lor este foarte variată: aminică, polipeptidică, lipidică, purinică și, nu în ultimul rând, radicali liberi ai oxigenului și oxidul de azot. Acțiunea lor este atât individuală, cât și, în special, prin însumare, interesând constelația factorilor modulatori locali ce se supraadaugă fondului reglator asigurat de inervație. La acestea se adaugă enzimele elaborate de celule sau rezultate din distrugerea lor, care activează sau inactivează substanțe biologice active.

Constelația autacoidă locală apare profund modificată în condițiile inflamației. Inflamația, generată de factorii poluanți, microbieni sau imuno-alergici, induce eliberarea, din celulele afectate, a mediatorilor ce amplifică procesul.

Celularitatea perimusculară are un rol deosebit în modularea tonusului bronhomotor, cu participare în special a epiteliului bronșic, endoteliului vascular, cât și a mastocitelor, neutrofilelor, eozinofilelor, bazofilelor, macrofagelor și trombocitelor. Implicarea acestora în procesele inflamatorii bronhopulmonare stă la baza hiperreactivității bronșice (SCHNEIDER F., 1996).

### 4.1. Celulele epiteliale

Epiteliul traheo-bronșic de tip pseudostratificat cilindric, columnar, are 13 varietăți celulare, clasificate după RENNARD S. I. (1994), în următoarele tipuri morfo-funcționale.





1. celule bazale, nediferențiate, extrem de active în inflamație;
2. celule superficiale nesecretoare, divizate în ciliate și celule în perie (*brush cells*). Acestea din urmă au rol de resorbție a lichidului luminal, din rândul cărora se detașează unele abordate de terminații nervoase senzitive (celule senzore?) și altele cu caracteristici imature (de înlocuire);
3. celule superficiale secretoare, unele seroase, altele mucoase (*goblet cells*). La nivelul bronhiolilor terminale se întâlnește o variantă a celulelor mucoase, celulele Clara, cu o secreție de tip lipoproteic (surfactant);
4. celule neurosecretoare (APUD), celule K (Kultchitski), conținând granule de catecolamine și serotonină.

Tradițional, epiteliul căilor aerifere a fost privit ca o barieră fizică, jucând un rol important în clearance-ul mucociliar și prevenind intrarea unor agenți nocivi în țesuturile bronșice subiacente. Date recente sugerează însă că această barieră joacă un rol cheie nu doar în patogenia fenomenelor inflamatorii caracteristice unor afecțiuni ce se manifestă prin obstrucție bronșică, ci și în etiologia acestora. Epiteliul bronșic funcționează ca barieră fizică, dar și ca un țesut metabolic activ, care, în condiții normale, menține homeostazia chimică necesară integrității funcționale a căilor aerifere.

Funcția de barieră fizico-chimică a epiteliului respirator a generat ipoteza că procesele inflamatorii intraluminale pot fi separate de parenchimul pulmonar.

Alterarea integrității epiteliale de către diverse substanțe nocive compromise funcția de barieră a epiteliului și crește sensibilitatea parenchimului față de mediatorii eliberați în procesele inflamatorii intraluminale. Se realizează astfel un dezechilibru al homeostaziei locale, ce are drept consecință apariția unor afecțiuni ale căilor aerifere și posibilitatea creșterii responsivității musculaturii bronșice (DAVIS R. J., 1992).

Interesant de semnalat este și rolul acestei „bariere” în modularea efectului unor agenți terapeutici. S-a constatat experimental că pentru substanțele hidrosolubile epiteliul poate funcționa ca un obstacol mecanic, capabil să reducă difuziunea unor agenți, atât de tip bronhoconstrictor, cât și de tip bronhodilatator. Față de drogurile liposolubile, epiteliul, prin lipidele membranare pe care le conține, poate acționa de o manieră care să permită menținerea unor concentrații locale ridicate (YANG J., 1991). Majoritatea studiilor efectuate în alterări epiteliale au avut ca obiect investigarea perturbărilor produse în astmul bronșic, modificările tonusului musculaturii netede traheo-bronșice fiind unanim recunoscute în această afecțiune.

Examenul histologic post-mortem al căilor aerifere la bolnavii astmatici arată prezența în lumenul acestora a unui exsudat de natură predominant inflamatorie, bogat în eozinofile. Exsudatul conține, de asemenea, celule epiteliale desprinse de pe suprafața căilor aerifere, precum și o redusă cantitate de mucus. Epiteliul apare parțial regenerat, prin metaplazia celulelor mucoase și scuamoase. S-a evidențiat,

de asemenea, îngroșarea peretelui căilor aerifere, determinată de îngroșarea membranei bazale, depozitului de collagen IV și de exsudatul inflamator bogat de la nivelul submucoasei, precum și depozitele ce se formează aici în relație cu procesul de reparație epitelială. Apare și o îngroșare a stratului muscular neted, ca rezultat al unor procese de hiperplazie și hipertrofie (HOGG J. C., 1993).

Există o strânsă legătură între fragilizarea epiteliului bronșic, descuamarea epitelială, edemul mucoasei și perturbarea mecanismelor de adeziune celulară la astmatici (LAITINEN A., 1994). Consecința funcțională clară a descuamării epiteliale este reprezentată de inducerea unei hiperreactivități bronșice. Diverși autori evidențiază o corelație netă între numărul de celule epiteliale recoltate prin lavajul bronhoalveolar și reactivitatea bronhomotorie. Gradul de hiperreactivitate apare, de asemenea, proporțional cu lungimea membranei bazale denudate.

Alterarea barierei fizico-chimice epiteliale poate determina, deci, implicarea subsecventă a mai multor mecanisme patogenetice (DAVIES R. J., 1992):

- a) creșterea permeabilității față de alergeni, iritanți, poluanți și alți agenți nocivi;
- b) modificări ale osmolarității fluidului endobronșic;
- c) expunerea liberă a terminațiilor nervoase senzitive intraepiteliale și potențarea reflexului de axon;
- d) producerea unor mediatori inflamatori derivați din celulele epiteliale stimulate;
- e) scăderea producției unor mediatori așa-zis „protectori“ (cu efecte antiinflamatoare și bronhorelaxante) la nivelul epiteliului alterat;
- f) implicarea celulelor epiteliale în modularea răspunsului imun local, prin producția de citokine inflamatorii specifice și prin modificarea expresiei unor molecule de adeziune.

Implicarea epiteliului în mecanismele nervoase de reglare a tonusului bronhomotor sunt azi de necontestat. Clasic, reglarea calibrului căilor aerifere depinde de echilibrul realizat între stimularea sistemului nervos autonom simpatic, cu efect bronhodilatator și activarea sistemului nervos autonom parasimpatic, cu efect bronhoconstrictor. Ambele căi nervoase se distribuie în căile aerifere la nivelul fibrelor musculare netede, de asemenea, al glandelor submucoase și a sistemului vascular local. Există, până în prezent, puține dovezi despre efectul stimulării adrenergice și/sau colinergice asupra epiteliului bronșic, ceea ce sugerează slaba sa implicare în aceste mecanisme.

Mult mai bine documentată este intervenția epiteliului asupra efectelor mediației de tip nonadrenergic noncolinergic (NANC), ca și rolul receptorilor „iritanți“ intraepiteliali. Terminațiile nervoase superficiale din căile aerifere sunt situate la mai puțin de un micrometru față de lumenul bronșic, foarte bine plasate pentru a putea răspunde prin bronhoconstricție reflexă la toate tipurile de iritanți endobronșici. Epiteliul traheo-bronșic are o inervație senzitivă ce-și are originea atât în ganglionii





jugular și nodos ai vagului, cât și în ganglionii senzitivi de pe rădăcina posterioară a nervilor spinali toracali superiori. Aceste fibre conțin substanța P, ce se eliberează sub acțiunea unor iritanți – inducând hipersecreție de mucus și de clor.

Leziunile epiteliale induc o intensă stimulare a terminațiilor nervoase, iar eliberarea sporită de substanță P va determina și o reacție inflamatorie, cât și bronhoconstricție. Aceste fenomene se vor amplifica printr-un reflex vagal.

Secvența fenomenelor ar fi următoarea:

- a) stimularea receptorilor nociceptivi, cu întreținerea eliberării neuropeptidelor;
- b) răspunsul imediat la substanța P prin:

- vasodilatație și creșterea permeabilității capilare;
- stimularea mastocitelor cu eliberarea de histamină, leucotriene și alți

mediatori cu efect bronhoconstrictor;

- c) histamina și leucotrienele eliberate amplifică inflamația inițială;

- d) histamina și leucotriena B<sub>4</sub> amplifică și eliberarea substanței P, prin stimularea directă a terminațiilor nervoase aferente.

Mediatorii chimici eliberați de la nivelul sistemului NANC excitator (NANCe) pot induce bronhoconstricție susținută, acționând direct la nivelul fibrelor musculare netede. Substanțele implicate în această mediație sunt toate de tip peptidic și includ: tahikininele, peptidul derivat din gena calcitoninei (CGRP), peptidul de eliberare al gastrinei (GRP). Tahikininele, care includ substanța P (SP), neurokinina A (NKA), neurokinina B (NKB) și altele, prezintă receptori specifici (NK1 pentru SP și NK2 pentru NKA), a căror prezență a fost detectată la nivelul fibrelor musculare netede, la nivel vascular ganglionar, dar și la nivel epitelial (MARTLING C. R., 1987).

Interesant de semnalat este interrelația funcțională între tahikinine, în special SP și celula epitelială. Pe de o parte, SP induce eliberarea unor mediatori și a speciilor reactive ale oxigenului din celulele inflamatorii, care au efect toxic asupra epitelului, determinând descuamarea acestuia și amplificarea efectului stimulilor bronhoconstrictori. Pe de altă parte, tahikininele sunt degradate în căile aerifere de către enzima de conversie a angiotensinei, localizată la nivelul endoteliului vascular, precum și de endopeptidaza neutră, localizată la nivelul epitelului bronșic.

Endopeptidaza neutră (NEP) este o enzimă ectomembranară, o metalopeptidază cu zinc, având afinitate recunoscută pentru o mare varietate de substraturi: bradikina, SP, NKA, VIP, – factorul natriuretic atrial Met- și Leu-encefalina, bombesina și peptide bombesin-like. Enzima clivează aceste peptide la nivelul situsului amino-terminal, hidrofobic, determinând, în majoritatea cazurilor, pierderea activității biologice a acestora. NEP intervine în modularea inflamației neurogene și a tonusului bronhomotor. În astmul bronșic există o strânsă legătură între gradul obstrucției căilor aerifere și scăderea activității enzimei. Reglarea activității NEP la nivelul căilor aerifere se realizează printr-o mare varietate de mecanisme. Printre factorii inhibitori menționăm fumul de țigară și inflamația, iar ca factori stimulatori – glucocorticoizii.

Epiteliul bronșic intervine și în modularea proceselor inflamatorii din căile aerifere. Infiltratul inflamator prezent la nivel epitelial, conduce la eliberarea a o serie de mediatori chimici, ce produc reacții locale importante, amplificate pe cale neurală. Celulele implicate interacționează complex cu celula epitelială, realizând în final un cerc vicios prin care se întreține procesul inflamator local și secundar și starea de hiperreactivitate a fibrelor musculare netede din pereții bronșici.

În cadrul acestor interrelații, epiteliul poate fi considerat o celulă țintă a celorlalți efectori ai inflamației. Odată stimulată, celula epitelială eliberează o serie de factori chemotactici solubili, pentru neutrofile, eozinofile, monocite și limfocite. Principalele substanțe eliberate de celula epitelială, mai ales ca reacție de răspuns la „stimulare”, sunt citokinele și factorii de creștere, endotelinele, metaboliții acidului arahidonic, monoxidul de azot. Stimulii care declanșează eliberarea acestora pot fi specifici pentru fiecare tip de mediator eliberat, dar, în principal, pot fi reprezentați de orice agenți intraluminali (oxidanți, iritanți, virusuri etc.), precum și de produșii eliberați de celelalte celule din infiltratul inflamator, în special diferite categorii de citokine.

Celula epitelială este capabilă să producă Interleukina 6 (IL6), Interleukina 8 (IL8), Factorul de stimulare a coloniilor granulo-monocitare (GMCSF), Factorul de necroză tumorală alfa ( $\text{TNF}\alpha$ ), Factorul de creștere derivat din plachete (PDGF), Factorul 1 de creștere de tip insulină (IGF1) și RANTES (*Released from Activated Normal T Cells*). Producția de citokine poate fi indusă prin:

a) diverși factori de agresiune intraluminali, incluzând oxidanți, mediatori inflamatori sau iritanți. S-a demonstrat că poluantul atmosferic  $\text{NO}_2$ , a cărei prezență a fost asociată cu creșterea responsivității bronșice, induce sinteza de GMCSF, IL8 și  $\text{TNF}\alpha$  în culturi de celule epiteliale (DEVALIA J. L., 1993);

b) infecțiile virale pot, de asemenea, să crească expresia citokinelor în celulele epiteliale. Virusul Influenza A se asociază cu creșterea expresiei IL8 (CHOI A. M. K., 1992);

c) Citokine eliberate de alte celule inflamatorii, fie în jurul căilor aerifere, fie chiar în lumenul acestora. La nivelul căilor aerifere macrofagele activate printr-un mecanism IgE-dependent declanșează prima undă de citokine, de tip IL1,  $\text{TNF}\alpha$ , IL6. Acestea vor acționa asupra unor receptori specifici prezenți pe celula epitelială și vor declanșa astfel eliberarea celui de-al doilea set de citokine, cu amplificarea reacției inflamatorii.

Celulele epiteliale traheo-bronșice mai produc și alte substanțe biologice active, dintre care menționăm: endotelina (ET-1), stimulator al secreției de mucus și clor, al mișcării ciliare și al contracției musculaturii netede; oxidul nitric și Prostaglandina E2 (PGE-2) cu efect bronhodilatator. PGE-2 are mai multe efecte benefice pentru epiteliul bronșic, ca optimizator al transportului hidro-ionic și, nu în ultimul rând, citoprotector și antiinflamator.







Experimental, pe culturi de celule epiteliale stimulate cu PAF, s-a evidențiat sinteza de 15-HETE (*acid hidroxicosatetranic*), mediator al reacției astmatice de fază tardivă. De asemenea epiteliul, prin metabolizarea LTA<sub>4</sub> produs de neutrofile, formează LTB<sub>4</sub>, un foarte puternic agent chemotactic (HENDERSON W. R., 1994).

Organizarea și menținerea arhitecturii tisulare se realizează cu participarea moleculelor de adeziune de pe suprafața celulară. Celulele epiteliale exprimă pe suprafața lor integrine  $\alpha$  și  $\beta$ , care funcționează ca receptori pentru componenta matriceală (colagen, fibronectină, laminină), cu rol în aderarea de membrana bazală. Numărul lor crește în urma stimulării, fiind implicate în migrarea leucocitelor și în localizarea lor în focarul inflamator epitelial, cu participarea ICAM-1 (molecule de adeziune intercelulară). Focarul inflamator celular, cu acumularea leucocitelor și sub efectul proteinelor cationice și mai ales a Proteinei Bazice Majore (MBP), contribuie la alterarea epitelială și creșterea responsivității bronșice.

Pierderea sau alterarea epiteliului poate induce hiperreactivitate bronșică prin trei mecanisme principale:

- a) creșterea permeabilității barierei epiteliale, cu sporirea concentrației agoniștilor;
- b) diminuarea barierei metabolice de inactivare a unor substanțe biologice active;
- c) scăderea eliberării de NEP.

Epiteliul supus alterării de către variați agenți (virali, toxice inhalatorii, inflamația etc.) are și o considerabilă capacitate de autoreparare, prin creșterea proliferării celulelor bazale și secretorii. Răspunsul proliferativ coexistă cu eliberarea unor factori autocrini de creștere. Producția excesivă a acestora poate stimula proliferarea fibroblastelor și a musculaturii netede, cu îngroșarea consecutivă a peretului bronșic și limitarea funcțională a căilor aerifere.

## 4.2. Celulele endoteliului vascular

Stratul unicelular care tapetează vasele sanguine are un rol deosebit în homeostazia sanguină, cardiovasculară dar și bronho-pulmonară. Celulele endoteliate sunt deosebit de reactive, grație proprietăților paracrine, cât și implicării directe în reacția inflamatorie (SCHNEIDER F., 1996; SISKAL., 1996).

Cuplul EDRF (*Factor relaxant derivat din endoteliu*) – Endotelină are un rol major în menținerea tonusului vascular, la care se adaugă eicosanoizii, precum și alte substanțe biologice active generate de activarea celulelor endoteliale, care, în totalitatea lor, acționează loco-regional, implicându-se și în mecanismele patologice ale unor afecțiuni bronho-pulmonare. EDRF, identificat de Moncada în 1987, ca fiind oxidul nitric (NO), este un radical liber extrem de reactiv cu o multitudine

de funcții reglatoare. La nivel pulmonar este implicat în mediația sistemului NANC bronho-dilatator, reglează direct tonusul bronșic, intervine în reglarea fluxului sanguin și, în plus, este produs în procesul inflamației.

NO-sintaza endotelială prezintă în proporție de 36% omologie structurală cu citocromul P450. Forma constitutivă Ca-Calmodulin dependentă este implicată în procesele fiziologice de semnalizare celulară, după acționarea receptorilor endoteliali de către acetilcolină, bradikinină, serotonină, stres mecanic. Forma inducibilă, sub influența unor citokine, endotoxine, produse bacteriene, intervine în procesele asociate cu inflamația (BILLIAR T. R., 1995; KUO P. C., 1995). Efectul direct relaxant al NO asupra musculaturii netede bronșice se realizează în urma interacțiunii cu  $\text{Fe}^{2+}$  hemic din guanilat ciclaza solubilă și generare de GMPc (MONCADA S., 1991).

Endotelina (ET), polipeptid cu 21 aminoacizi, a fost pusă în evidență în endoteliul vaselor pulmonare, epiteliul căilor aeriene, glandelor submucoase bronșice și la nivelul mușchiului neted bronșic, dar sursa poate fi mastocitară și macrofagică (MARIASSY A. T.; 1996; OHKUBO K., 1994). La nivelul epiteliului căilor aerifere ET stimulează secreția de clor și de mucus, mișcările ciliare, mitogeneza și eliberarea de eicosanoizi (RUBANYI G. M., 1994).

La nivelul musculaturii netede traheo-bronșice ET-1 are un puternic efect contractil, mediat de receptori de tip  $\text{ET}_B$ , cu implicarea proteinei G și formarea de  $\text{IP}_3$  și DAG (KNOTT P. G., 1995; McKAY K. O., 1996).

În lavajul bronho-alveolar (BAL) al persoanelor sănătoase, concentrația de ET este de  $0,06 \pm 0,02$  pg/ml (față de nivelul plasmatic, unde este de 0,3–3 pg/ml). La bolnavii cu *status astmaticus* și bronșită cronică, ET din BAL este de 4–6 ori mai mare. Tratamentul cu corticosteroizi și agonști  $\beta$ -adrenergici, reduce la jumătate acest exces (BATISTINI B., 1993; D'ORLEANS-JUSTE P., 1996).

Dintre produșii endoteliului vascular cu acțiune asupra mușchiului neted traheo-bronșic, mai semnalăm, pe de o parte,  $\text{TxA}_2$ ,  $\text{LTC}_4$  și PAF, bronhoconstrictori și pe de altă parte,  $\text{PGI}_2$  – bronhodilatatoare.

### 4.3. Mastocitul

Căile respiratorii prezintă o însemnată populație mastocitară, în special în zona bazală a epiteliului bronșic și în pereții alveolari. Se apreciază că plămânii conțin  $10^6$  mastocite/g.

Asocierea cu epiteliul, venulele post-capilare, filetele nervoase și musculatura netedă ilustrează importanța lui în homeostazia căilor aerifere. În epiteliul traheo-bronșic, ca și în parenchimul pulmonar, domină mastocite care conțin triptaza ( $\text{MC}_T$ ), pe când în țesutul conjunctiv, alături de glandele submucoase și vasele sanguine domină mastocite care conțin pe lângă triptază, chimază și carboxipeptidaza A ( $\text{MC}_{TC}$ ).



Triptaza este componentul proteic major al granulelor din mastocit, cu multiple implicații proteolitice, cum sunt activarea complementului, clivarea fibrinogenului, generarea de kinine. Atât triptaza, cât și chimaza pot degrada neuropeptide, în special VIP. În timp ce triptaza intervine în creșterea contractilității musculaturii netede, chimaza potențiază secreția de mucus și mitoză fibroblastilor.

Degranularea este momentul esențial al acțiunii mastocitare. Aceasta are loc cu o intensitate deosebită în urma legării IgE de receptorul membranar în prezența antigenului, care induce sinteza de  $IP_3$  și DAG (mediat de proteina Gp și GMPc). Inițial degranularea este calciu-independentă, ca apoi, influxul de calciu să accelereze procesul.

Mediatorii mastocitari eliberați în special în urma degranulării sunt reprezentanți de Histamină, Serotonină,  $LTC_4$ ,  $LTD_4$ ,  $LTE_4$ . Factorul chemotactic al eozinofilelor și al neutrofilelor (ECF-A și NCF-A), arilsulfataza, PAF, bradikina, sunt răspunzători pentru bronhospasm, vasoconstricție, creșterea permeabilității vasculare, secreția de mucus și chemotactism.

Mastocitele, dintre care un rol deosebit revine celor intraluminale, reprezintă un important factor în patogeneza astmului. Aprecierea numărului de mastocite activate în BAL la bolnavii cu astm bronșic este un criteriu de diagnostic etiopatogenic. Numărul cel mai mare – 2% din populația celulară se consemnează în astmul alergic (RAICA M., 1995).

Citokinele mastocitare IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8,  $TNF\alpha$  influențează direct influxul, persistența și activitatea celulelor inflamatorii, mai ales a eozinofilelor și bazofilelor (BITTELMAN B. D., 1994). Activitatea enzimatică mastocitară potențează evenimentele inflamatorii.

La atopici sau în alte forme de astm alergic, inhalarea de antigen specific generează lansare de mediatorii mastocitari, producând răspunsul astmatic imediat. În răspunsul astmatic tardiv și ultratardiv reacția mastocitară este exacerbată de citokinele limfocitelor T-CD4, prin IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, GM-CSF (Factor stimulator al coloniilor granulocitare și macrofagice), cât și de C3a, C5a, SP și peptide bazice.

#### 4.4. Fibroblastul

Fibroblastul (DICULESCU I., 1987) este principala celulă a țesutului conjunctiv, cu o mare capacitate mitotică și cu un imens echipament enzimatic. Are rol în sinteza și secreția proteinelor extracelulare conjunctive. Este hormonosensibil, cu un mare potențial de regenerare și modelare. Mitoza este potențată de chimaza mastocitară. Componentele matriceale, cum sunt fibronectina, colagenul, laminina, peptide derivate din elastină, acționează chemotactic, îl mobilizează, potențând funcția de remodelare a substanței fundamentale și fibrilare conjunctive. Celulele epiteliale au un rol modulator asupra răspunsului fibroblastic.

Procesul inflamator induce o accentuare a sintezei glicozaminoglicanilor și collagenului. În inflamația cronică asociată astmului se constată fibroză subepitelială cu fibrocite – celule în repaus funcțional.

## 4.5. Granulocitele

Granulocitele, uneori cele mai reprezentative leucocite din circulație, migrează în afara vasului sanguin, formând cele mai numeroase celule alohtone ale peretelui și lumenului căilor aerifere. Au rol în apărarea, reglarea și medierea răspunsurilor inflamatorii, imunitare și a tonusului bronhomotor.

**4.5.1. Neutrofilul** se concretizează prin capacitatea de locomoție, de aderare, fagocitoză și efect bactericid. Apare ca un rezident normal al căilor aerifere mari, unde reprezintă 50% din celulele lavajului bronșic, în timp ce în lavajul bronhoalveolar este cu mult mai redus (WARDLAW A. J., 1988).

Prezența neutrofilelor în BAL și în peretele bronșic la astmatici, cât și capacitatea lor de a altera structura și funcțiile căilor respiratorii, sugerează un posibil rol în patogeniza astmului (DIAZ P., 1984; MARTIN R. J., 1988). Rolul lor în reacția de hipersensibilitate poate fi direct – inflamator, prin producția anionilor superoxid, cât și indirect – prin recrutarea altor celule inflamatorii. Dar, cu toate că mediatorii inflamației eliberați de neutrofil (prostaglandine, tromboxani,  $LTB_4$ , PAF) sunt implicați în hiperresponsivitatea bronșică, rolul patogen în astm este controversat. Această afirmație este întărită de cercetările lui Mohanna F., care pledează pentru inhibarea funcțiilor neutrofilelor de către IgE. În schimb, în serul astmaticilor sensibilizați la alergen sau la stimuli nespecfici, KAY B. A., 1992 a evidențiat factori chemotactici ai anafilaxiei pentru neutrofile; iar inflamația căilor aerifere pledează cert pentru participarea neutrofilelor în astm.

**4.5.2. Bazofilul** are receptori de mare afinitate pentru IgE și granulații conținând histamina. Nu se întâlnește în țesutul conjunctiv, decât în inflamații alergice. Deși are unele caracteristici comune cu mastocitul, nu este implicat în procesele bronho-pulmonare conexe astmului.

**4.5.3. Eozinofilul** este o celulă efectoră a astmului, în special în răspunsul tardiv. Astmul este definit ca „bronșită cronică descuamativă eozinofilică”. Recrutarea și acumularea eozinofilelor în căile aerifere se realizează grație factorilor chemotactici  $C5a$ , HETE,  $LTB_4$ , PAF. Prezintă receptori specifici pentru IgE, IgA, complement, interleukine, histamină, factori chemotactici și exprimă o seamă de molecule de adeziune. La astmatici apar subpopulații celulare hipodense, expresia activării. Activarea se realizează de către produsele celulelor inflamatorii (PAF,  $LTB_4$ ), imunoglobuline (IgA, IgG, IgE), SP,  $C5a$ , citokine de





proveniență limfocite T, celule endoteliale și monocite. În acest proces rolul crucial revine PAF-ului.

Eozinofilele hipodense degranulate și vacuolate sunt responsabile de eliberarea proteinelor cationice (MBP, ECP și EPO) cu efecte citotoxice, de destrucție epitelială și eliberatoare de histamină din mastocite. La acestea se adaugă efectul distructiv prin mecanism oxidativ (specii reactive ale oxigenului). De asemenea, se consemnează mediatori neoformați, proinflamatori, PAF, LTC<sub>4</sub>, PGE, TxA<sub>2</sub>, potențatori ai bronhoconstricției, secreției de mucus și hiperpermeabilizanți ai vaselor. Eozinofilele activate mai sintetizează IL-1, IL-3, IL-5, GM-CSF și TGF. KAY B. A., 1992, consideră că MBP ar fi implicată în disfuncția receptorilor M<sub>2</sub> și în accentuarea bronhoconstricției mediată vagal.

O serie de medicamente antiastmatice au acțiune asupra eozinofilului. Astfel:

- corticosteroizii inhibă chemotactismul și aderența de endoteliul vascular
- agonștii β-adrenergici inhibă activarea
- cromoglicatul reduce numărul eozinofilelor bronșice
- ketotifenul inhibă recrutarea eozinofilelor în căile respiratorii indusă de PAF.

Dar eozinofilul are și rol protector, participând la degradarea histaminei, inactivarea leucotrienelor și a PAF-ului. Alterarea balanței dintre rolul protector și rolul inductor ar putea constitui punctul central al patogenezei astmului.

#### 4.6. Limfocitele

În peretele căilor respiratorii se consemnează constant prezența limfocitelor, în special în bronhiolae. Ambele tipuri, atât limfocitele B (LB) cât și limfocitele T (LT), sunt prezente, cu mențiunea că intraepitelial predomină LT și mai ales subtipul citotoxic/supresor (LT-CD8). Numărul lor nu se modifică în stadiul precoce al astmului alergic, dar crește la 12–16 ore de la contactul cu alergenul. În infiltratul inflamator din astmul cronic se remarcă un număr sporit, dar cu un deficit relativ de LT-CD8 (FOLKERST G., 1991).

Se cunoaște rolul proinflamator al subtipului LT helper (LT-CD4) legat de eliberarea limfokinelor, în special al IL-2, IL-3, IL-5, IL-6 și IL-10 (CORRIGAN C. J., 1992). De asemenea, LT-CD4 activată, secretă IL-4 (elaborată și de mastocite), implicată în schimbarea izotipului LB, care în acest fel dobândește funcția de a secreta IgE (PĂUNESCU V., 1996).

În funcție de limfokinele secretate, se disting mai multe tipuri de LT-CD4, dintre care prezintă interes deosebit LTh2 – proinflamator și inductor al sintezei de IgE și LTh1, care prin IFNγ determină supresia proliferării LB și a sintezei de IgE (PENE I., 1988). De asemenea, limfocitele bolnavilor de astm, atât alergic, cât și non-alergic, produc și lansează HRF (Histamine Releasing Factor).

Studii de flow-citometrie relevă creșterea proporției de LT-CD4 activate, din sângele periferic al bolnavilor cu astm bronșic sever, aceste limfocite exprimând receptorii IL-2, HLA-DR și VLA-1 (Very Late Antigen). Același aspect se consemnează și în fluidul bronho-alveolar al astmaticilor atopici la 48 de ore după expunere la alergen. Efectul benefic al corticoterapiei în astm se explică prin acțiunea asupra LT-CD4 (SCHELEIMER R. P., 1989).

În concluzie, limfocitele participă indirect în patogeniza astmului, inclusiv în hiperresponsivitatea bronșică, prin acțiune proinflamatorie, producție de IgE și HRF.

#### 4.7. Sistemul monocito-macrofagic

Monocitele circulă în sânge aproximativ 12–32 de ore, cel mult 70 de ore, după care trec în țesuturi. În țesuturi se diferențiază în macrofage, întâlnindu-se în plămân în interstițiul conjunctiv și în alveole, în peretele întregului arbore traheo-bronșic și în lumenul acestuia. Au o durată de viață ce variază de la câteva săptămâni la câteva luni sau ani. Prin capacitatea de fagocitoză au un rol protector major față de particulele care ajung pe cale aeriană, cât și al microorganismelor din aer și plămân.

Recunosc și endocitează molecule non-self și ca celule prezentatoare de antigen sunt elemente cheie al răspunsului imun. Participă la realizarea răspunsului imun și prin sinteza de monokine. Conțin peste 50 de receptori pentru imunoglobuline, histamină, diverși derivați icosanoizi, interleukine, glucocorticoizi etc. Are o importantă funcție secretoare, producând peste 100 de substanțe cu rol inflamator, antiinflamator, imunoreglator (FELS A. O. S., 1986).

Activarea macrofagelor de către antigene, IgE, limfokinele limfocitului T, se manifestă prin numeroase pseudopode și vezicule pinocitate, intensificarea metabolismului, producția crescută de specii reactive ale oxigenului etc. Activarea IgE dependentă induce eliberarea de mediatori proinflamatori și chemotactici, spasmogeni bronhiolari și ai vaselor pulmonare. Balanța dintre factorii proinflamatori (tromboxani, prostaglandine, leucotriene, IL-1, IL-6, TNF, specii reactive ale oxigenului etc.) și antiinflamatori (factorul de transformare TGF- $\beta$ 1, IL-10) are rol în modularea evolutivă a inflamației.

Elaborează și produce cu acțiune asupra țesutului conjunctiv – collagenază, elastază, lizozim, factori activatori și inhibitori ai plasminei.

Sunt principalele celule efectoare implicate în rezistența antiinfecțioasă, dar și în inițierea accesului astmatic, cât și în hipersensibilitatea de tip întârziat (FULLER R. W., 1992).

În astmul bronșic, sub acțiunea glucocorticoizilor se reduce lansarea de către monocit a substanțelor proinflamatorii (BARNES P. S., 1990).



## 4.8. Trombocitul

Faptul că trombocitele intacte se găsesc foarte rar în țesuturi, nu exclude posibilitatea ca activate intravascular, generând mediatori inflamatori, să acționeze extravascular. Printre mediatorii trombocitari un rol important revine PAF-ului prin efectul bronhoconstrictor deosebit de puternic.

## BIBLIOGRAFIE

1. HAULICĂ I., PETRESCU G., BRĂNIȘTEANU D., S. R. A., *Hormonii tisulari*. Ed. „Junimea”, Iași, 1983.
2. SCHNEIDER F., *Introducere în fiziologia clinică*. Ed. „Facla” Timișoara, 1977.
3. SCHNEIDER F., BUNU C., TĂNĂSIE G., MEDERLE C., PĂUNESCU V., *Human bronchial responsiveness. Local mechanisms of modulation*. Fiziologia-Physiology, 1996; 11:7-12.
4. RENNARD I. S., ROMBERGER J. D., SISSON H. J., ESSEN G. S., RUBINSTEIN I., ROBBINS A. R., SPURZEM R. J., *Airway epithelial cells: functional roles in airway disease*. Am. J. Respir. Crit. Care. Med., 1994; 150:S27-S30.
5. DAVIES R. J., DEVALIA L. J., *Epithelial cells*. British Medical Bulletin, Asthma, 1992; 48:85-96.
6. YANG J., MITZNER W., HIRSHMAN C., *Role of the epithelium in airway smooth muscle response to relaxant agonists*. J. Appl. Physiol., 1991; 71(4):1434-1440.
7. HOGG J. C., *Pathology of asthma*. J. Allergy Clin. Immunol., 1993; 92:1-5
8. LAITINEN A., LAITINEN L., *Airway morphology: epithelium/basement membrane*. Am J. Respir. Crit. Care. Med., 1994; 150:S14-S17.
9. MARTLING C. R., THEODORSSON-NORHEIM E., LUNDBERG J. M., *Occurrence and effects of multiple tachykinins: substance P, neurokinin A and neuropeptide K in human lower airways*. Life Sci., 1987; 40: 1633-1643.
10. DEVALIA L. J., RUSZNAK C., SAPSFORD R. J., CALDERON M., DAVIES R. J., *Nitrogen dioxide (NO<sub>2</sub>)- induced permeability and synthesis of inflammatory cytokines by human bronchial epithelial cell monolayer in vitro*, Am. J. Allergy Clin. Immunol., 1993, 91:328
11. CHOI A.M. K., JACOBY D. B., *Influenza A infection induces interleukin 8 gene expressio in human airway epithelial cells*, FEEBS, 1992, 9:309-327
12. HENDERSON W. R., MARTIN T.R., MERRITT T. L., RANGHI G., *Leukotriene B4 is the predominant neutropil chemotatic produced by human macrophager*, Am. Rev. Resp. Dis., 1994,131, A37
13. SCHNEIDER F., SISKI I., TĂNĂSIE G., CRĂȘNIC D., *Rolul factorilor derivați din endotelu în modularea tonusului bronhomotor*. Timișoara Medicală, 1996, 41/3-4: 5-12.

14. SISKI I., CRĂSNIC D., SCHNEIDER F., *Endothelins: sources, receptors and roles in the respiratory system, possible implications in some respiratory disorders*. Fiziologia-Physiology, 1996, 6/4 (12): 3–9.
15. BILLIAR T.R., *Nitric oxide. Novel biology with clinical relevance*, Ann. Surg., 1995, 221, 4:339–349
16. KUO P. C., SCHROEDER R. A., *The emerging multifaceted roles of nitric oxid*, Ann. Surg., 1995, 221, 3:220–235
17. MONCADA S., PALMER R. M. J., HIGGS E.A., *Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology*. Pharmacol. Rev. 1991, 43: 109–142.
18. MARIASSY A. T., GLASSBERG M. K., SALATHE M., S. A. *Endothelial and epithelial sources of endothelin-1 in sheep bronchi*. Am. J. Physiol., 1996; 270: L54–61.
19. OHKUBO K., OHNISHI M., YOKOSHIMA K., TAKIZAWA R., OKUDA M., KALMER M. A., *Study of endothelin; distribution in the airway and release from epithelial cells*. Arerugi (Japan), 1994; 43,3:448–457.
20. RUBANYI G.M., POLIKOFF M.A., *Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology and pathophysiology*, Pharmacological reviews, 1994, 46, 3:325–394
21. KNOTT P. G., D'APRILE A. C., HENRY P. J. et al., *Receptors for endothelin-1 in asthmatic human peripheral lung*. Br.J. Pharmacol, 1995; 114, 1:1–3.
22. McKAY K. O., ARMOUR C. L., and BLACK J. L., *Endothelin receptors and activity differ in human, dog and rabbit lung*. Am. J. Physiol., 1996; 270,14:L37–L43.
23. BATTISTINI B., D'ORLEANS-JUSTE P., SIROIS P., *Endothelins: circulating plasma levels and presence in other biologic fluids*. Lab. Investig., 1993; vol. 68, 6:600–617.
24. D'ORLEANS-JUSTE P., GRATTON J. P., LEDUC R., et al., *L'endotheline; pharmacologie, cardiovasculaire et considerations physiopathologiques*. Medicine/Science, 1996; 12:563–574.
25. RAICA M., *Sistemul mastocitar*. Ed. Mirton, Timișoara, 1995.
26. BITTELMAN B. D., CASALE B. T., *Allergic models and citokines*. Am. J. Respir. Care. Med., 1994; 150:S72–S76.
27. DICULESCU I., ONICESCU D., *Histologie medicală*, Ed. Med., București, 1987.
28. WARDLAW A. J., DUNNETTE S., GLEICH G. J., COLLINS J. V., KAY A. B., *Eosinophils and mast cells in bronchoalveolar lavage in mild asthma: relationship to bronchial hyperreactivity*. Am. Rev. Respir. Dis., 1988, 137: 62–69.
29. DIAZ P., GALLEGUILLONS F. R., GONZALES M. C., PANTIN C., KAY A. B., *Bronchoalveolar lavage in asthma: the effect of DSCG on leukocyte counts, immunoglobulins and complement*. J. Allergy Clin. Immunol. 1984, 74:41–48.
30. MARTIN R. J., CICCUTO L. C., BALLARD R. D., SZEFLER S. J., *Airway inflammation in nocturnal asthma*. Am. Rev. Respir. Dis. 1988, 137:284.



31. KAY A. B., CORRIGAN C.J., *Eosinophils and neutrophils*. British Medical Bulletin, 1992, 48/1: 51–64.
32. FOLKERTS G., *Virus-induced Airway Hyperresponsiveness*. Utrecht Universitet, 1991.
33. CORRIGAN C. J., KAY A. B., *Role of T-lymphocytes and lymphokines*. British Medical Bulletin, 1992, 48, 1:72–84.
34. PĂUNESCU V., TATU C., ȘTEFĂNESCU D., MEDREA D., *Imunologie. Concepte fundamentale și aplicative*. Ed. Helicon Timișoara, 1996.
35. PENE I., ROUSSET F., BRIERE F., et al., *IgE production by normal human lymphocytes is induced by interleukin-4 and suppressed by interferons  $\gamma$  and  $\alpha$  and prostaglandin  $E_2$* . Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1988, 85: 6880–6884.
36. SCHLEIMER R. P., CLAMAN H. N., ORONSKY A., *Antyinflamatory steroid action: basic and clinical aspects*. Academic Press, London 1989.
37. FELS A. O. S., CHON Z. A., *The alveolar macrophage*. J. Appl. Physiol., 1986, 60: 353–369.
38. FULLER R. W., *Macrophages. Asthma*. British Medical Bulletin, 1992, 48, 1: 65–71.
39. BARNES P. J., *Reactive oxygen species and airway inflammation*. Free Rad. Biol. Med., 1990, 9: 235–243.



## 5. INFLAMAȚIA ȘI BRONHOMOTRICITATEA

Inflamația căilor aerifere inferioare, alături de cele superioare, reprezintă una dintre cele mai frecvente suferințe ale organismului. O incidență mare se consemnează pentru infecțiile episodice, bronșiolita tipică a copilului și bronșita bacteriană și virotică la vârstnici. Un loc aparte revine bronhopneumopatiilor cronice cu manifestări de tip obstructiv, dar disfuncții obstructive cronice se întâlnesc și în fibroza chistică, bronșiectazie, hipogammaglobulinemie, bisinoză, deficitul de  $\alpha_1$ -antitripsină, injurii chimice etc. Toate acestea se diferențiază net de astmul bronșic, o afectare bronșică complexă care se caracterizează printr-o hiperreactivitate la diverși factori, în urma cărora survine un sindrom obstructiv în general reversibil (PRIDE N. B., 1989) (SCHNEIDER F., 1996).

Astmul bronșic, indiferent de etiologie, are ca manifestare comună inflamația, în care sunt implicați atât factori imunitari cât și componente nervoase autonome. Astfel fibrele nervoase aferente – senzitive din căile respiratorii, în cadrul reflexului de axon, interacționează cu celulele sistemului imun și cu miocitele vasculare și bronșice, formând o unitate cu rol în detectarea și protejarea față de diverse noxe – declanșând așa-zisa inflamație neurogenă.

Etiologic astmul bronșic prezintă trei forme majore: astmul extrinsec sau alergic, astmul intrinsec sau infecțios și astmul mixt (JEFFERY P.K., 1992). Indiferent de cauză, astmul se manifestă ca o boală inflamatorie (CHUNG K.F., 1992); un persistent proces inflamator submucosal al căilor respiratorii ce se concretizează prin hiperresponsivitate bronșică și obstrucție a căilor respiratorii. Hiperresponsivitatea bronșică se referă la o exagerată sensivitate a căilor respiratorii, la o varietate de stimuli ce induc o deteriorare a parametrilor funcționali pulmonari, măsurabili prin PEFR și FEV1. Stimulii pot fi farmacologici (metacolină, histamină, leucotriene) sau provocări prin praf, efort, aer rece etc.

Injuria tisulară, indiferent de natura ei, determină eliberarea unor mari varietăți de substanțe biologice active, ce determină o serie de modificări secundare. Totalitatea acestora constituie inflamația (ale cărei semne cardinale au fost definite



odinioară de Celsus) caracterizată, azi, prin următoarele fenomene: vasodilatație, creșterea permeabilității capilare, coagularea lichidului interstițial, migrarea tisulară a elementelor sanguine și balonare celulară (THOMSON N.C., 1992).

Inițierea răspunsului inflamator debutează cu o vasoconstricție neurogenă, dublată de acțiunea LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> și LTE<sub>4</sub> eliberate de mastocite și bazofile. Urmează vasodilatație, hiperpermeabilizare vasculară și edem, produse de histamina mastocitară și bazofilică, serotonina trombocitară și de bradikinina sistemului Hageman, la care se adaugă PGE<sub>2</sub> și PGD<sub>2</sub> monocitare, macrofagice și mastocitare, PGI<sub>2</sub> și NO endoteliale. Creșterea permeabilității este indusă și de acțiunea directă a agenților chimici exogeni, cât și de specii reactive ale oxigenului exogene și endogene.

Speciile reactive ale oxigenului au un rol patogenic major, participând direct la suferința, fragilizarea și distrugerea epitelială, cât și la hipersecreția de mucus; și indirect, potențând inițierea cascadei acidului arahidonic, lansarea de PAF și histamină, în relație cu hiperreactivitatea musculaturii bronșice.

Cercetările experimentale ale lui C.J.A. DOELMAN (1991) pe trahee de șobolan evidențiază, sub acțiunea apei oxigenate, o imbalanță dintre β-adreno-receptori și receptorii colinergici, ceea ce facilitează răspunsul spastic la acțiunea agonștilor colinergici. Acest aspect a fost constatat și în cercetările noastre (MEDERLE C., SCHNEIDER F., 1995). Dezepitelizarea atenuează efectul relaxant muscular la agonști β-adrenergici. DOELMAN evidențiază de asemenea o hiper-responsivitate la serotonină în urma tratării cu Cumen-hidroperoxid (un hidroperoxid lipofilic), cât și inducerea contracției musculaturii traheale la tratarea cu hipoclorit, efect blocat prin pretratare cu N-acetil-L-cisteină.

Sistemul complement intervine de asemenea, calea clasică fiind activată de agregate IgA, endotoxine și lipopolizaharide. Activarea antigen-dependentă a celulelor B și T determină sinteza de IL-1, TNF, care la rândul lor induc elaborarea și a IL-6, IL-8, GM-CSF și a altor citokine proinflamatorii (DEJICA D., 1997).

Urmează faza celulară a inflamației sub acțiunea chemotactică, un rol important revenind IL-8 endotelială, cu atragerea leucocitelor și, în special, a neutrofilelor, care aderă de celulele endoteliale și traversează peretele vascular, induse de integrine, molecule ICAM și selectine. Cascada de adeziune leucocit-endoteliu și secvențele migrării până în lumenul bronșic au următoarele etape:

- a) adeziune inițială (rolling-ul leucocitar);
- b) adeziunea fermă și migrarea transendotelială;
- c) migrarea leucocitelor prin matricea extracelulară;
- d) contactul leucocit-membrană bazală și epiteliu bronșic, migrarea transepitelială și dezvoltarea unui proces de apărare în lumen.

În cursul diapedezei migratorii, granulocitele interacționează cu celulele endoteliale și epiteliale în producerea de mediatori locali, care induc exacerbarea

(*upregulate*) responsivității musculaturii netede adiacente și edem luminal, ce mărește efectul stimulilor constrictori ai musculaturii bronșice (LEFF A. R., 1991). În unele cazuri, sub acțiunea citotoxicității locale, se constată și destrucție epitelială, rezultând descuamarea epitelială. În cazul astmului bronșic, se consemnează bronșită descuamativă eozinofilică (WARDLAW A. S., 1994).

Activarea fagocitelor decurge în două etape (KISHIMOTO T. K., 1991):

1. Pregătirea (*priming*), potențată de TNF, GM-CSF, G-CSF, constând din accelerarea sintezei de enzime și a unor specii reactive ale oxigenului.

2. Declanșarea (*triggering*), marcată de degranularea și de eliberarea enzimelor și a speciilor reactive ale oxigenului, cu acțiune distructivă asupra microorganismelor și a mediului tisular local.

Citokinele joacă un important rol în desfășurarea procesului inflamator din astmul bronșic. Constelația de citokine participă la inducerea, persistența, dar și la limitarea inflamației. Efect proinflamator au IL-1, IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-8. Reacția inflamatorie este limitată de citokine antiinflamatorii TGF- $\beta$ , IL-4, IL-10, IL-13, cât și de receptori solubili care leagă citokinele proinflamatorii anihilând acțiunea lor.

Deci citokinele, după modul în care participă la reacția inflamatorie, sunt potențatoare și anihilatoare. Un interes deosebit prezintă chemokinele sau intercrinele din grupul citokinelor proinflamatorii. Acestea sunt elaborate sub acțiunea lipopolizaharidelor microbiene cât și al trombinei, de către monocite, limfocite, fibroblaști, celule endoteliale și celule musculare netede. Intervin în procesele bronhoconstrictoare, în special, prin elaborarea de RANTES (Regulated upon Activation Normal T Expressed and Secreted), un factor chemoatractant și degranulator pentru eozinofile, atractor și eliberator de histamină din bazofile.

Pe implicarea citokinelor în patogeniza astmului se bazează și anumite acțiuni terapeutice. Astfel, corticosteroizii suprimă sinteza citokinelor de către celulele inflamatorii, ciclosporina inhibă sinteza citokinelor de către limfocitele T, teofilina, în concentrație plasmatică ridicată, prin inhibarea fosfodiesterazei, induce persistența AMP ciclic suprimând lansarea de citokine din limfocite T (BARNES P. J., 1994).

În modularea răspunsului inflamator intervin și trombocitele, pe de o parte, prin potențarea agregării, chemotactismului și recrutării neutrofilelor și, pe de altă parte, prin intervenția în procesele reparatorii.

Inflamația are manifestări distructive, de apărare și de reparare, ponderea și evoluția acestora țin de o serie de factori conecși locali și generali, exogeni și endogeni.

În inflamație sunt antrenate direct sau indirect componentele specifice sistemului imun și celule prezentatoare de antigen (PĂUNESCU V., 1996).

Imunitatea are două fațete, una protectivă și una hiperreactivă, uneori greu de diferențiat și în acest caz doar evoluția procesului permite concluzia finală.



Inflamație cu reacție imună hiperreactivă este și astmul bronșic cu componentă alergică, care este o reacție de hipersensibilitate de tip I.

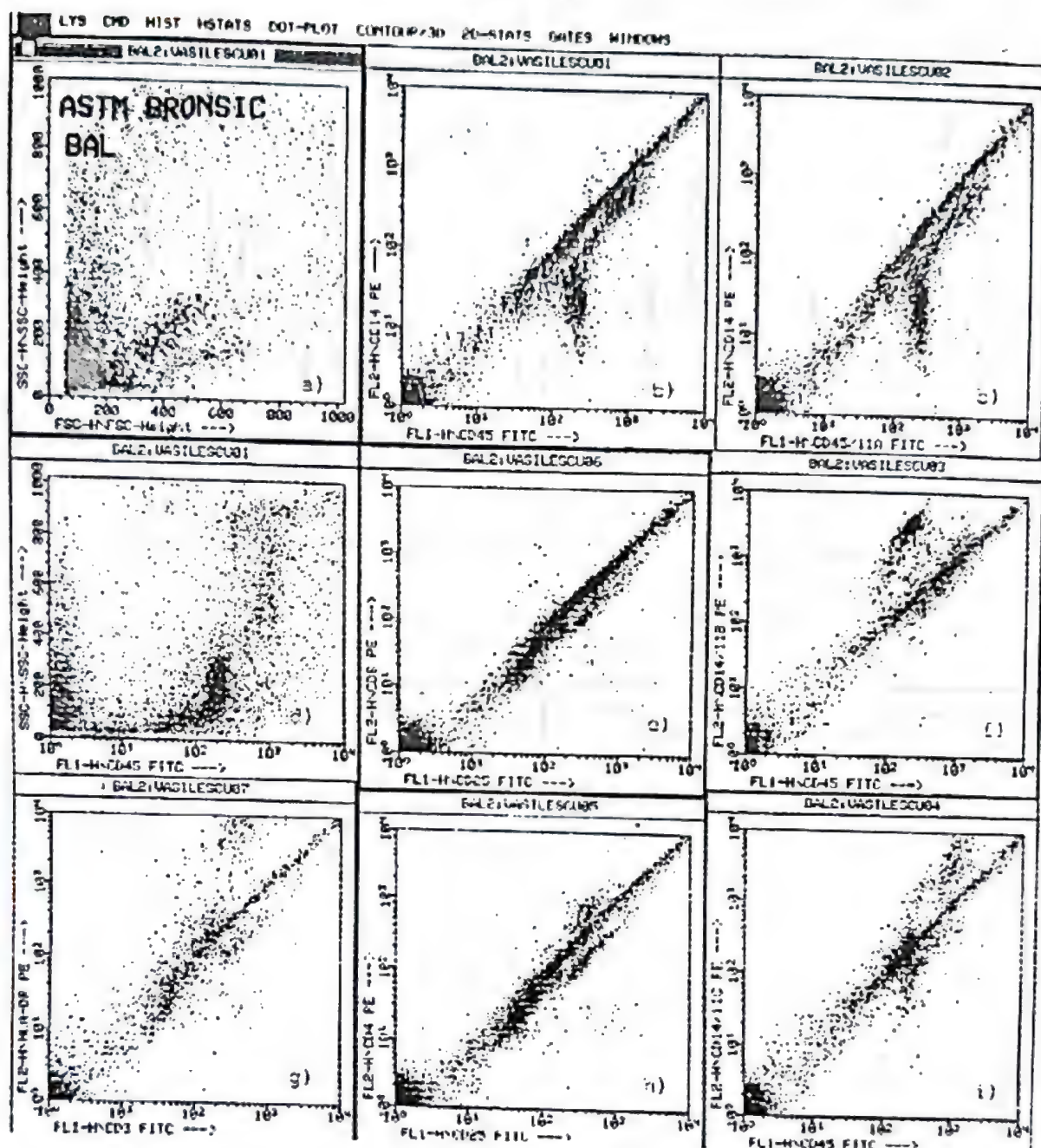
Poate fi extrinsec – tipic alergic, având uneori un caracter sezonier, pe un fond familial, sau intrinsec, infecțios, survenind în general în sezonul rece, mai ales sub acțiunea aerului rece prezent. În multe cazuri se îmbină cele două forme (TINKELMAN D. G., 1987).

Un loc aparte are astmul profesional, în parte generat de fondul alergic, sub acțiunea părului de animale, detergenți cu conținut de enzime, prafuri (de casă, dar și de minerale). În unele cazuri se consemnează lansarea imunitară de histamină la lucrătorii din brutărie, industria farmaceutică, cosmetică, prelucrarea cauciucului, lemnului și a maselor plastice. În această din urmă categorie intră și bisinzoa din industria de prelucrare a bumbacului, inului și cânepei (SZEGEDI G., 1990).

Este deseori asociată cu atopia, în special astmul extrinsec, legat de o producție crescută de IgE (reagine). În mod normal se găsește în cantitate medie de 3,3  $\mu\text{g/kg}$ , producția zilnică este de 2,3  $\mu\text{g/kg}$  – semnificând că 2/3 sunt înlocuite zilnic. Cea mai mare parte a IgE se găsește sub formă liberă, circulantă, doar 1% fiind fixată tisular, mai ales perivascular. Are originea în plasmocite, existente și în căile bronșice. Este citofil, având capacitatea de a se fixa în special pe mastocite, combinarea IgE și un antigen specific la membrana mastocitară produce degranularea acestuia, cu eliberare de produși implicați în inflamație și bronhoconstricție. IgE se fixează și pe bazofile, eozinofile, trombocite, macrofage tisulare, potențând posibilitatea activării lor.

Criza astmatică poate fi imediată – cu durată de minute, tardivă cu durată de ore și prelungită, cu durată de zile. În criza imediată – bronhospasmul, rolul principal revine mastocitului. Prolungirea crizei are loc pe baza mediatorilor lansați și de eozinofile și monocite, iar amplificarea procesului presupune intrarea în joc a celulelor prezentatoare de antigen și a limfocitelor T helper. Particularitatea fazei tardive este amplificarea edemului mucoasei cu hiperreactivitatea acesteia și lansarea de mediatorii derivați din neutrofile și monocite. În astmul cronic se consemnează și o intensificare a distrucției epiteliale, hipersecreție de mucus, hiperreactivitate bronhomotorie, iar infiltratul inflamator este dominat de eozinofile.

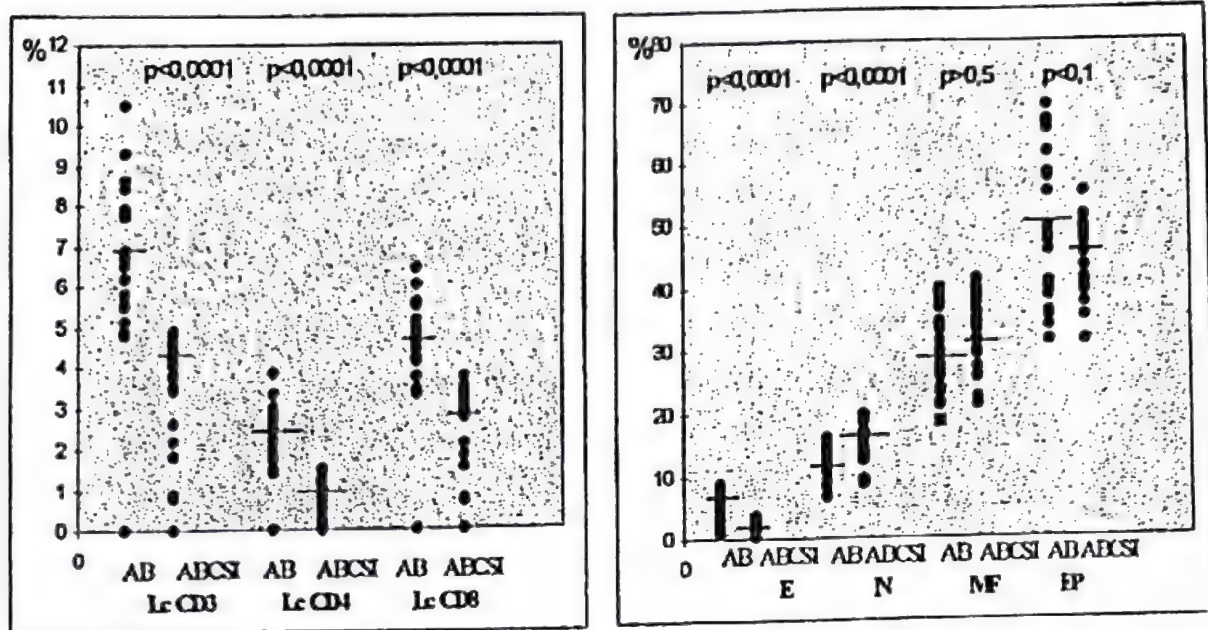
Cercetările noastre cu privire la reacția inflamatorie exprimată de lavajul bronhoalveolar, au fost efectuate flow-citometric cu anticorpi monoclonali specifici CD3 (limfocite T), CD4, (limfocite T helper), CD8 (limfocite T citotoxice), CD19 (limfocite B), CD16/52 (celule NK), HLA-DR (vezi fig. 5/1). S-a constatat la pacienții astmatici, nesupuși corticoterapiei, pe fondul unei crescute celularități, prevalența celulelor epiteliale (52%) și o relativă creștere a eozinofilelor (3–6%) și limfocitelor



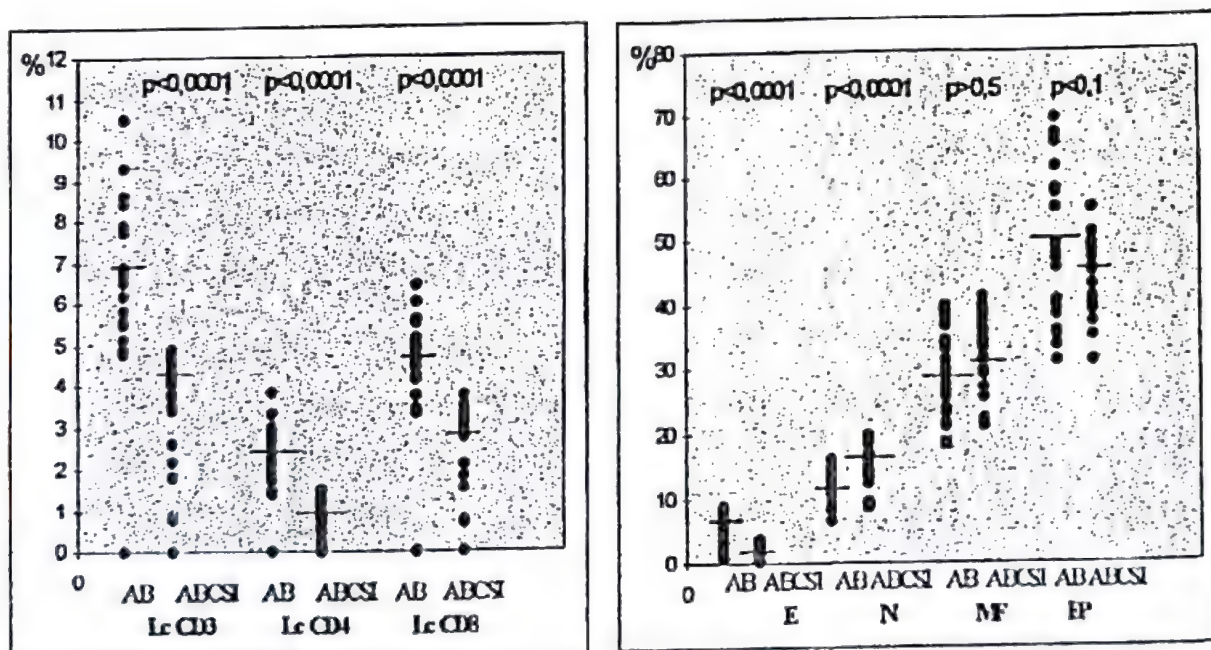
**Fig. 5.1 – Aspectul flow citometric al celularității din lichidul de lavaj bronho-alveolar**

a) imaginea FSC/SSC (granularitate și dimensiune) a celulelor; b) separarea celulelor pe baza expresiei CD14–CD15; c) expresia CD11A pe orizontală; d) separarea celulelor pe baza granularității și expresiei CD45; e) separarea CD8 (pe verticală) și CD25 (pe orizontală); f) expresia CD11B (pe verticală); g) expresia HLA-DR (pe verticală); h) separarea CD4 (pe verticală) și CD25 (pe orizontală); i) expresia CD11C (pe verticală)





(a) Valoarea comparativă a celulelor din BAL în astmul bronșic, cu și fără CSI



(b) Valoarea comparativă a celulelor din BAL în BPOC față de astmul bronșic (AB) și valorile normale (N)

Fig. 5.2 – Valoarea comparativă a celulelor din BAL în astmul bronșic față de BPOC și lotul martor

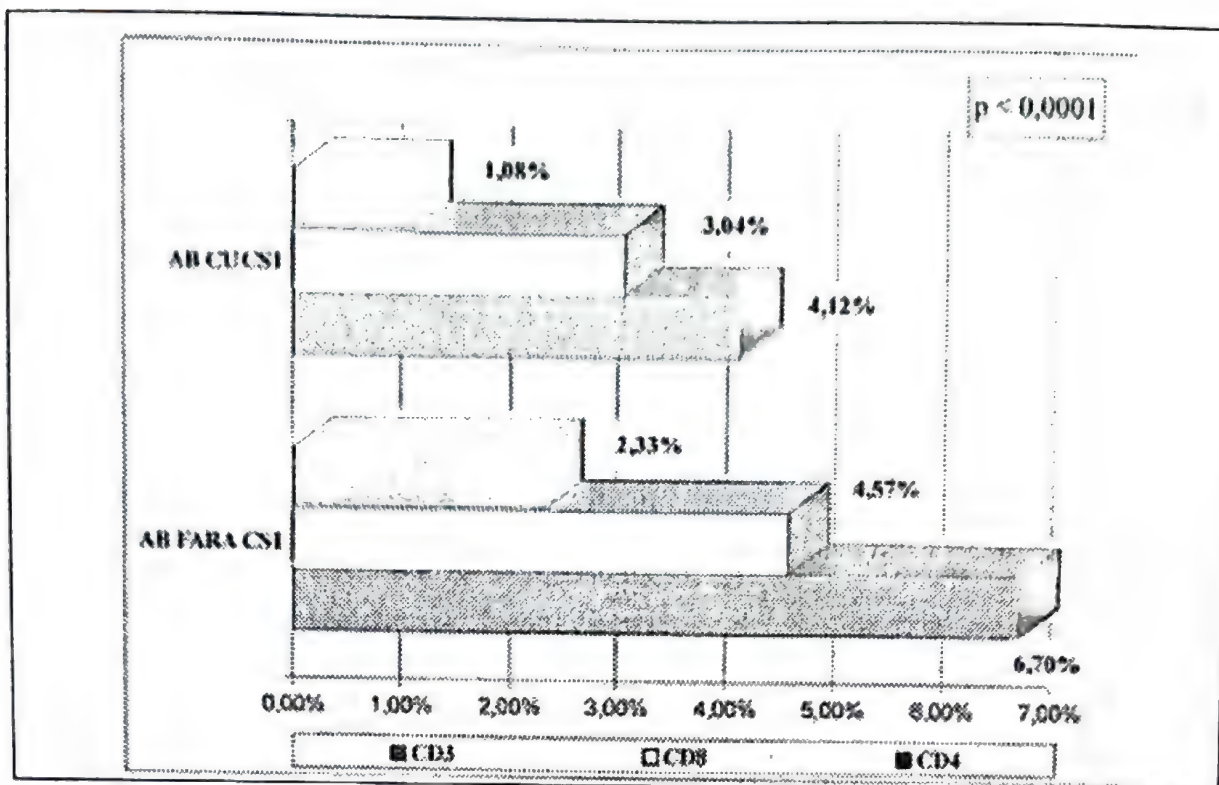


Fig. 5.3. – Repartiția procentuală a lc T CD3 și a subpopulațiilor CD4 și CD8 din BAL, la loturile de astmatici cu și fără CSI

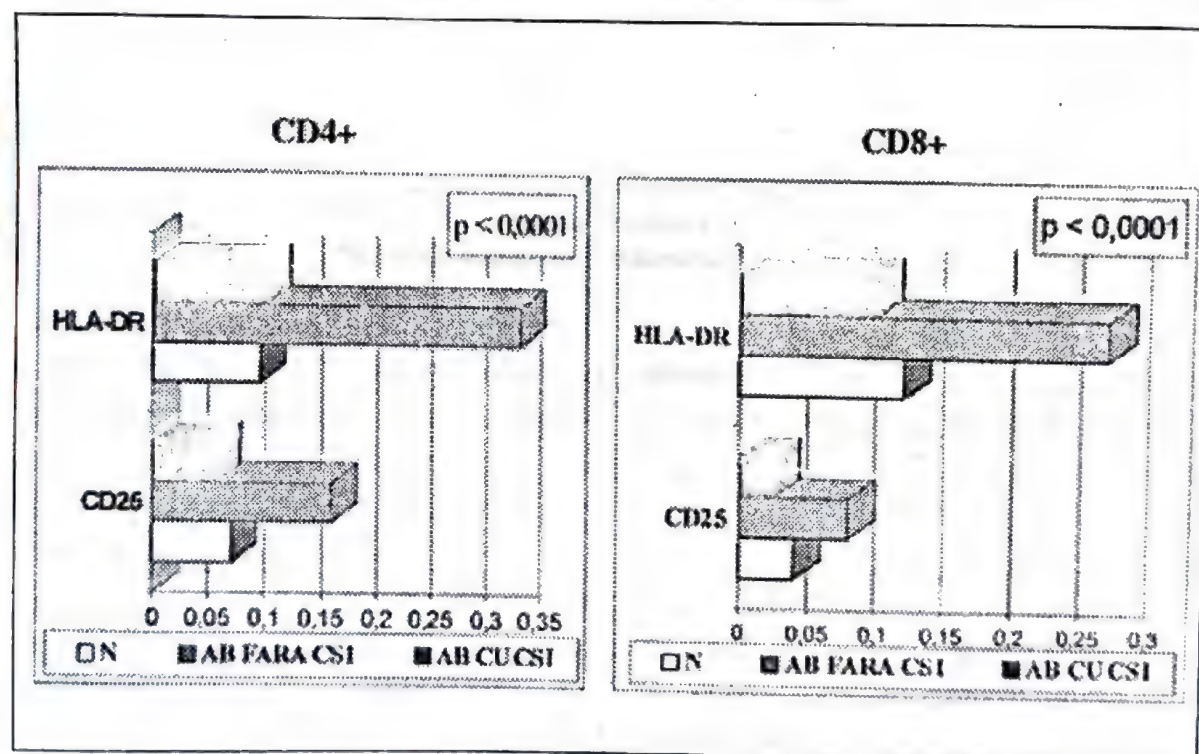
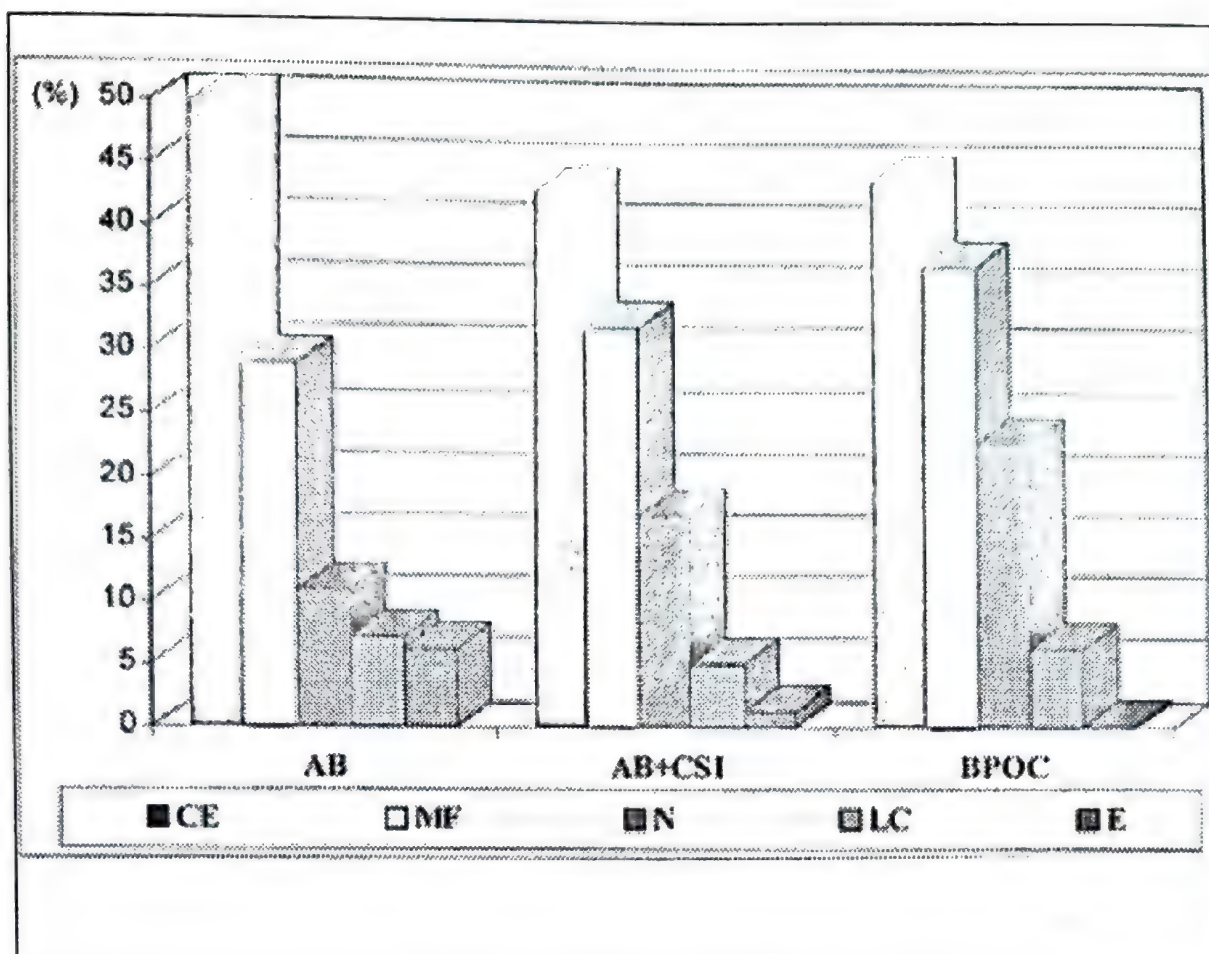


Fig. 5.4 – Repartiția markerilor CD25 și HLA-DR pe suprafața lc T CD4 și CD8 din BAL, la loturile de astmatici cu și fără CSI





**Fig. 5.5 – Repartiția procentuală  
a celulelor din BAL  
la loturile de astmatici comparativ cu BPOC**

(6,69+/-1,5%) (vezi fig. 5/2). Analizându-se subseturile limfocitare, s-a constatat că majoritatea sunt CD3+ și dintre acestea, predomină subsetul CD8+ față de CD4+ (vezi fig. 5/3). Repartiția markerilor de activare evidențiază însă o activare mai mare a subsetului CD4+ (vezi fig. 5/4). La pacienții astmatici supuși corticoterapiei inhalatorii, s-a remarcat pe fondul unui număr crescut de celule epiteliale (55%), o relativă creștere a neutrofilelor (12–17%), cu o semnificativă scădere a eozinofilelor (0,5–2%) și limfocitelor (0,8–3%) (vezi fig. 5/2 și 5/5). În ceea ce privește expresia HLA-DR, care a fost relevantă pentru o parte din eozinofile, limfocite CD3+ și macrofage, la grupul nesupus corticoterapiei, la cei tratați, reacția este absentă pe eozinofile și limfocite CD3+ (vezi fig. 5/1g). S-a urmărit, de asemenea, distribuția  $\beta_2$  integrinelor de pe suprafața leucocitelor din lavajul bronhoalveolar cu anti-CD11a, -CD11b și -CD11c, constatându-se la pacienții nesupuși corticoterapiei, prezența

markerilor, în special la granulocite, cu modificări nesemnificative în urma corticoterapiei (BUNU C., 1995; BUNU C., 1996; SCHNEIDER F., 1996) (vezi fig. 5/1c,f,i).

## BIBLIOGRAFIE

1. PRIDE N. B., VERMEIRE P., ALLEGRA L. (1989) *Diagnostic labels applied to model cas histories of chronic airflow obstruction*. Eur. Respir. J., 2:, 702–709.
2. SCHNEIDER F., BUNU C., TĂNASIE G., MEDERLE C., PĂUNESCU V. (1996): *Human Bronchial responsiveness. Local mechanism of modulation*. Fiziologia-Physiology 6, 3 (11): 7–12.
3. JEFFERY P. K. (1992): *Pathology of asthma*. British Med. Bull. 48:1, 22–39.
4. CHUNG K. F., BARNES P. J. (1992): *Role of inflammatory mediators in asthma*. British Med. Bull. 48:1, 135–148.
5. THOMSON N. C. (1992): *Anti-inflammatory therapies*. British Med. Bull.: 48: 1, 205–220.
6. DOELMAN C. J. A. (1991): *Reactive oxygen species and airway hyperreactivity*. Febodruk – Amsterdam.
7. MEDERLE C., SCHNEIDER F. (1995): *The constriction effect of acetylcoline by enhanced hydrogen peroxide in guinea pig isolated tracheal muscle*. Fiziologia – Physiology, 5, 1–2 (7): 25–27.
8. DEJICA D. (1997): *Tratat de imunologie clinică*, Ed. „Dacia”, Cluj-Napoca.
9. LEFF A. R., TERR A. I. (1991): *Inflammation and cell-cell interactions in airway hyperresponsiveness*, Am. J. Phys. 2: 189–207.
10. WARDLAW J. A., SYMAR S. F., WALSH M. G. (1994): *Eosinophil adhesion in allergic inflammation*. J. Allergy. Clinic. Immunol., 94, 1163–1171.
11. KISHIMOTO T. K. (1991): *A dynamic model for neutrophil localization to inflammatory sites*. J. NIH Res. 3: 75–82.
12. BARNES P. J. (1994): *Cytokines as mediators of chronic Asthma*. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 150: S42–S49.
13. PĂUNESCU V., ȚĂȚU C. A., STĂNESCU D. I., MEDREA D. P. (1996): *Imunologie, concepte fundamentale și aplicative*. Ed. „Helicon”, Timișoara.



14. TINKELMAN D. G., FALLIERS C. J., NASPITZ C. K. (1981): *Childhood Asthma*; Marcel Dekker ink – N. Y., Basel.

15. SZEGEDI G., GERGELY P., SIPKA S., SZEMERE P. (1990): *Klinikai Immunologia. Medicina* – Budapest, 1990.

16. BUNU C., SCHNEIDER F., PĂUNESCU V., TUDORACHE V. M., VANCEA D. (1995): *Effects of corticosteroids on the recruitment and function of bronchoalveolar lavage cells in asthmatic patients*. Fiziologia – Physiology, 5, 1–2, (7): 13–16.

17. BUNU C., SCHNEIDER F., PĂUNESCU V., TUDORACHE V. M., VANCEA D. (1996): *The variation of integrin expression on the leukocytes subpopulations in asthmatic patients*. Fiziologia – Physiology, 6, 1 (9): 8–11.

## 6. TONUSUL ȘI RESPONSIVITATEA BRONȘICĂ

În condiții fiziologice există o stare de tonus permanent al mușchiului neted bronșic, indus de interacțiunea complexă a diversilor factori reglatori – inervație vegetativă colinergică, adrenergică, sistemul nonadrenergic noncolinergic (NANC) și factori umorali, reprezentați de mediatori primari și secundari.

Factorii neuro-umorali sistemici și locali pot determina efecte cumulative sau antagonice, în sens bronhodilatator sau constrictor, cu modificarea tonusului căilor aerifere, în condiții normale între anumite limite. În menținerea tonusului căilor aerifere, un rol primordial îl are nervul vag, existând un ritm circadian cu un maxim la ora 5 și un minim după orele 18. Tonusul musculaturii bronșice dependent de vag variază și cu etapa respiratorie – crește în expir și scade în inspir. Inspirul forțat normal induce bronhodilatație. Menținerea unui tonus adecvat optimizează distribuția ventilației în funcție de postură, starea de repaus sau efort, valoarea corespunzătoare a spațiului mort, travaliul muscular ventilator și protecția bronhiilor față de variațiile de tensiune intratoracică.

Perturbarea unuia sau mai multor factori reglatori duce la o reactivitate crescută a căilor respiratorii, denumită în mod generic hiperreactivitate sau hiperresponsivitate bronșică (HRB) și care este, în general, inclusă în definiția astmului bronșic. American Thoracic Society (1987) definește astmul ca un sindrom clinic caracterizat printr-o reacție exagerată a arborelui traheo-bronșic la o varietate de stimuli chimici, farmacologici sau fizici (LOCKHART A., 1994).

Manifestarea fiziopatologică primară a acestei hiperresponsivități este o obstrucție bronșică variabilă, reversibilă, cu creșterea cu peste 15% a volumului expirator maxim pe secundă (VEMS).

În cadrul noțiunii de hiperresponsivitate este necesară disocierea a două aspecte: sensibilitate și reactivitate bronșică, cei doi termeni descriind aspecte diferite ale curbei doză-răspuns la inhalarea de agenți agonști, ca metacolina, carbacol (agonști de receptor colinergic) sau histamina (OREHEK J., 1977, citat de LOCKHART A., 1994). Curba doză-efect la acești agenți are o alură sigmoidă, iar





răspunsul maxim este în platou. Doza sau concentrația agonistului ce cauzează o reducere de 20% a VEMS-ului este denumită doza de provocare<sub>20</sub> sau concentrația<sub>20</sub> (PD<sub>20</sub> sau PC<sub>20</sub>) (FOLKERTS G., 1991).

**Hipersensibilitatea** traheo-bronșică semnifică un răspuns normal al arborelui traheo-bronșic la agenți bronho-constrictori, dar concentrațiile necesare pentru obținerea răspunsului contractil sunt mai mici, iar doza de provocare<sub>20</sub> este joasă. Hipersensibilitatea se poate datora unei creșteri a afinității receptorului față de un agonist sau unui acces mai bun al agentului bronhoconstrictor la locul de acțiune, ca în cazul distrucției epitelului bronșic.

**Hiperreactivitatea** traheo-bronșică semnifică o creștere a răspunsului bronhoconstrictor mai mare decât în mod curent, la creșterea concentrației agentului constrictor, evidențiată pe curba doză-efect prin accelerarea pantei și se poate datora unei interacțiuni receptor-efector mai intense.

În timp ce subiecții indemni ating un răspuns în platou reproductibil la agenți constrictori la un grad mediu de îngustare a căilor aerifere, pacienții cu hiperresponsivitate traheo-bronșică dezvoltă o obstrucție mai severă, cu atingerea dificilă sau nemăsurabilă în platou (MICHOU D. C., 1981; WOOLCOCK A. J., 1984).

Trebuie, de asemenea, făcută distincția între hiperreactivitatea bronșică specifică și nespecifică.

- **Hiperreactivitatea specifică** constă într-un răspuns bronșic obstructiv la alergeni la care subiecții au fost sensibilizați. Alergenul, de obicei inhalat de către persoane atopice, declanșează criza de astm, în urma eliberării unor mediatori preformați, ca histamina, serotonina, bradikina, sau a unor mediatori sintetizați de novo, ca leucotriene, prostaglandine și tromboxanul A<sub>2</sub>, care duc la constricția căilor aerifere.

- **Hiperreactivitatea non-specifică (non-alergică)**, ce nu reacționează la alergeni, dar obișnuit, atât pacienții cu astm alergic (atopic sau extrinsec) cât și cei cu astm non-alergic (intrinsec), răspund prin bronhospasm la o varietate de stimuli farmacologici, fizici sau chimici, ca histamina, agenți colinergici, prostaglandine, leucotriene, aer rece sau/și uscat, hiperventilația izocapnică, aerosoli hiperosmolari, poluanți atmosferici, efort fizic (TOWNLEI R. G., 1988; BLACK J. L., 1989; LEVIS A. R., 1990; CALDERON E., 1992).

Efectorul principal al hiperreactivității bronșice este reprezentat de musculatura traheo-bronșică. Dar la apariția obstrucției bronșice concură și microcirculația locală, cu creșterea permeabilității vasculare, edemul, exsudatul sau secreția intraluminală și îngroșarea pereților căilor aerifere, procese ce sunt induse, pe lângă mecanismele alergice și non-alergice, și de procese inflamatorii traheo-bronșice. Există, de asemenea, o interacțiune între mecanismele nervoase și cele inflamatorii, încât s-a impus conceptul de „inflamație neurogenă” aplicat la nivelul căilor aerifere.

În procesele inflamatorii bronho-pulmonare sunt implicate celule rezidente în peretele traheo-bronșic și celule migrate din sângele periferic. Prin activarea lor se eliberează mediatori primari și sintetizați *de novo*, agenți chemotactici, interleukine, enzime citotoxice, specii reactive ale oxigenului. Din interacțiunea acestor factori sunt recrutate și activate alte celule efectoare, distrucție epitelială, activarea complementului, a kininelor, cu prelungirea în timp și accentuarea hiperreactivității bronșice (VAN OOSTERHOUT A.J. M., 1990; FABER J., 1991).

Manifestări de tip astmatiform apar și la pacienții cu bronșite cronice, în urma expunerii la concentrații crescute de „agenți iritanți”. Pe lângă elementele comune, trebuie disociate particularitățile de manifestare a HRB la astmatici, comparativ cu subiecții cu bronșite cronice, manifestări ce sunt datorate caracterului cronic recidivant și reversibilității inflamației din căile respiratorii la astmatici, față de modificările ireversibile ale structurii peretelui căilor aerifere din bronșita cronică.

Astfel la astmatici, intensitatea hiperreactivității bronșice este variabilă în timp, sub influența factorilor de mediu sau a terapiei antiinflamatoare, pe când în cazul bronșitelor, variază puțin în timp, are un grad moderat de manifestare și se poate atinge un platou la testele de provocare.

## 6.1. Rolul sistemului nervos autonom în hiperreactivitatea bronșică

Sistemul nervos autonom deține un rol principal în modularea tonusului bronșic, cu participarea:

- sistemului parasimpatic, arborele traheo-bronșic fiind bogat inervat de nervul vag, cu efect bronhoconstrictor;
- sistemul simpatic, care acționează mai ales indirect, având rol inhibitor la nivel ganglionar și postganglionar parasimpatic (prin receptori  $\beta$  și  $\alpha_2$ ), reducând transmisia colinergică, cu reducerea tonusului bronhomotor;
- sistemul nervos noncolinergic nonadrenergic, cu o componentă inhibitoare și una excitatoare.

Sistemul nervos autonom intervine și în controlul debitului sanguin, a permeabilității vasculare, a volumului de secreție, în modularea eliberării de mediatori de către mastocite (BARNES P. J., 1990 a).

În hiperreactivitatea bronșică implicațiile mecanismelor neurogenice, mult discutate, sunt complexe, actualmente atribuindu-se un rol mult mai important interacțiunii dintre neurotransmițători și mediatorii inflamatori, decât unei alterări a sistemului nervos autonom.

### 6.1.1. Rolul sistemului nervos colinergic

Inervația parasimpatică colinergică reprezintă cel mai important sistem nervos bronhoconstrictor, responsabil și de secreția de mucus și vasodilatație bronșică (BARNES P. J., 1992 a).





Un răspuns exagerat al bronșiilor la inhalarea de agoniști muscarinici ai acetilcolinei, carbacol și metacolină, a fost observat la pacienții astmatici și mai puțin marcat la cei cu BPOC, sau la subiecții non-atopici după infecții virale ale căilor respiratorii (MICHOU M. C., 1994).

Deși multe studii au arătat că în astm pare improbabilă o anomalie primară a sistemului colinergic, se ia totuși în considerare o creștere a neurotransmisiei ganglionare prin acțiunea mediatorilor inflamatori eliberați în căile aerifere (BARNES P. J., 1990 a). Astfel, pot fi implicați receptorii muscarinici  $M_1$ , localizați în ganglionii parasimpatici, cu rol facilitator în transmisia parasimpatică (BARNES P. J., 1992 a, 1993).

Administrarea unui antagonist  $M_1$  selectiv – pirenzepina – inhibă reflexul colinergic indus de expunerea la dioxid de sulf la astmatici, considerându-se că la aceștia receptorii  $M_1$  sunt mai sensibili (LAMMERS J. W., 1989). Se incriminează, de asemenea, o anomalie a receptorilor  $M_2$ , denumiți și autoreceptori. Situați presinaptic, au efect inhibitor în transmisia colinergică.

Disfuncționalitatea lor este sugerată de unele observații:

- pilocarpina, agonist al receptorilor  $M_2$ , este capabilă să inhibe o bronhoconstricție reflexă la subiectul normal, dar nu și la cel astmatic;
- astmaticul este susceptibil, contrar subiectului normal, să facă o bronhoconstricție după o priză de un  $\beta$ -blocant. Această observație sugerează un deficit al autoreceptorilor  $M_2$ , care, în stare normală, contracarează efectul unui blocaj al receptorilor adrenergici presinaptici (FABER J., 1991; FOLKERTS G., 1991; BARNES P. J., 1992 a, b).

Receptorii  $M_2$  pot fi alterați de specii reactive ale oxigenului eliberate de celulele inflamatorii în astm, de proteina bazică majoră (PBM) și de eozinofil-peroxidază (EPO) eliberate de eozinofile, la animale sensibilizate cât și la astmatici, care inhibă interacțiunea ligand-receptor și/sau de neuraminidazele virale prezente în infecțiile respiratorii (CASALE B. T., 1988; MINETTE P. A., 1990; BARNES P. J., 1994; BARRETT E. K., 1995). Această alterare  $M_2$  antrenează o anulare a inhibării eliberării acetilcolinei, contribuind astfel la exacerbară reactivității bronșice.

În privința receptorilor  $M_3$ , de la nivelul fibrelor musculare netede care mediază efectele postganglionare ale acetilcolinei, aceștia determină contracția musculaturii netede bronșice, vasodilatație și stimularea secreției de mucus (JANSSEN L. J., 1990). Unele studii nu au consemnat o creștere a afinității sau numărului lor.

Și activarea căilor aferente parasimpatice pot determina un răspuns exagerat la acțiunea diversilor stimuli. Astfel, stimuli mecanici și chimici (poluanți atmosferici, ozonul inhalat) și, probabil, infecțiile bronșice, acționând asupra receptorilor de iritație, printr-un reflex colinergic, provoacă bronhoconstricție (BARNES P. J., 1992 a). Acești receptori pot fi activați de mediatori inflamatori, ca histamina,

serotonina,  $\text{PGF}_2\alpha$ . Stimularea receptorilor J (juxtacapilari) de către congestia sau edemul pulmonar determină, de asemenea, bronhoconstricție.

Fibrele nervoase C sunt activate de o varietate de stimuli – capsaicină, bradikinină, prostaglandine, cu inducerea unei bronhoconstricții severe și secreție de mucus.

O categorie de fibre C conține neuropeptide ca tahikinine și calcitonin-gene related peptide (CGRP), a căror eliberare este stimulată de capsaicină (BARNES P. J., 1991 a, b; 1992 a, b). Activarea retrogradă a acestor fibre, printr-un reflex de axon, poate conduce la inflamația căilor aerifere (inflamație neurogenă) și bronhoconstricție (BARNES P. J., 1992 a).

O altă cauză a exacerbării răspunsului colinergic este reprezentată de accesul mai ușor al diferiților stimuli specifici și nespecfici asupra terminațiilor nervoase în urma distrugerii epiteliului căilor aerifere (GODARD Ph., 1990).

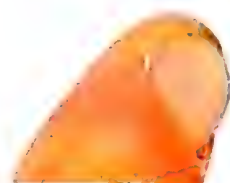
### 6.1.2. Rolul sistemului nervos adrenergic

Inervația simpatică a căilor aerifere este foarte săracă. A fost evidențiată în vasele bronșice, glandele submucoase și la nivelul ganglionilor parasimpatici și fibrelor colinergice postganglionare (BARNES P.J., 1990 a). La nivelul mușchilor netezi ai căilor aerifere inervația simpatică este aproape inexistentă, în timp ce receptorii  $\beta$ -adrenergici sunt prezenți din abundență, activați probabil de adrenalina circulantă (BARNES P. J., 1986 a; COBURN R. F., 1990). Alături de noradrenalină, în terminațiile nervoase simpatice este colocalizat neuropeptidul Y (NPY) (POTTER E. K., 1988). La animal neuropeptidul Y diminuează transmisia colinergică și este un vasoconstrictor puternic al mușchiului neted arteriolar (STRETTON C. D., 1988; BARNES P. J., 1991 a).

**Receptorii  $\beta$ -adrenergici (RBA) –  $\beta_1$  și  $\beta_2$ ,** în proporție la om de 30/70 răspund:  $\beta_1$  – la noradrenalina eliberată de fibrele nervoase simpatice și  $\beta_2$  – la adrenalina circulantă (BARNES P. J., 1992 a; BAI T. R., 1992). Receptorii  $\beta_2$  sunt prezenți la nivelul celulelor musculare netede ale căilor aerifere, celulelor epiteliale, pneumocitelor de tip I și II, mastocitelor, celulelor endoteliale și musculare netede vasculare (CARSTAIRS J. R., 1985; BARNES P. J., 1990 a).

Stimularea receptorilor  $\beta_2$ -adrenergici produce o relaxare importantă a mușchiului neted respirator. Prin prezența receptorilor  $\beta_2$ -adrenergici la nivelul ganglionilor parasimpatici și fibrelor colinergice postganglionare, aceștia au rol inhibitor asupra transmisiei colinergice (BARNES P. J., 1990 a, 1992 a; BAI T. R., 1992). De asemenea, ei inhibă eliberarea de mediatori de către mastocite.

Rolul RBA în hiperreactivitatea bronșică a fost mult discutat. Ipoteza emisă acum 30 de ani de Szentivanyi, care consideră că la originea astmului ar fi o





anomalie în numărul și răspunsul RBA (SZENTIVANYI A., 1968), a generat numeroase studii, al căror rezultate sunt contradictorii și, în mare parte, infirmate.

Chiar dacă la originea astmului nu este un defect major al receptorilor  $\beta$ -adrenergici, anomalii de funcționare ale acestor receptori pot contribui la creșterea bronhoconstricției. Bronhoconstricția indusă la astmatici prin blocați  $\beta$ -adrenergici pare a fi dată de eliberarea crescută de acetilcolină, secundară blocajului  $\beta$ -receptorilor prejoncționali, pentru că această reacție poate fi blocată prin administrarea de atropină (BAI T. R., 1992).

Alte studii implică funcționalitatea însăși a RBA. În administrarea cronică la astmatici de agonști  $\beta$ -adrenergici se produce, uneori, o diminuare a răspunsului bronhodilatator, o creștere a eliberării de mediatori inflamatori de către mastocite și tendința de a dezvolta edeme ale peretelui bronșic, efecte ce sunt atribuite unei desensibilizări a receptorilor  $\beta$ -adrenergici (O'CONNOR B. J., 1992).

Prođuși ai inflamației, cum ar fi radicalii de  $O_2$ , pot scădea funcția  $\beta$ -receptorilor căilor aerifere, iar factorul activator plachetar (PAF) reduce densitatea lor (ENGELS F., 1985; CASALE B. T., 1988; NECHIFOR M., 1996 b).

**Receptorii  $\alpha$ -adrenergici** – clasificați în subtipurile  $\alpha_1$  și  $\alpha_2$ , în număr redus în plămânul uman, sunt localizați în vasele pulmonare și bronșice, la nivelul celulelor epitelului bronșic. A fost sugerată prezența receptorilor  $\alpha_2$  la nivelul glandelor submucoase, a ganglionilor parasimpatici intramurali, a fibrelor nervoase colinergice și a fibrelor C senzitive (BARNES P. J., 1992 a).

Stimularea  $\alpha$ -adrenergică *in vitro* crește secreția de mucus și produce o contracție a mușchiului neted respirator, dar la om și câine acest efect nu apare decât dacă țesuturile au fost precontractate cu histamină sau serotonină (BARNES P. J., 1986 b). *In vivo*, la animal, stimularea  $\alpha$ -adrenergică induce o vasoconstricție a vaselor pulmonare și bronșice și o scădere a permeabilității vasculare (LOCKART A., 1992).

Inhalarea de agonști  $\alpha$ -adrenergici nu are efect asupra tonusului bronhomotor la omul sănătos, dar cauzează o bronhoconstricție la astmatici. Acest efect este atribuit unui răspuns exagerat al  $\alpha$ -adrenoreceptorilor sau creșterii numărului lor, dar la fel poate oglindi o HRB nespecifică. De asemenea, obstrucția bronșică poate fi indirect datorată  $\alpha$ -receptorilor de la nivelul vaselor sanguine, cu modificarea tonusului lor și a debitului sanguin. Poate fi implicată și o scădere a activității receptorilor  $\alpha_2$  prejoncționali, cu rol inhibitor în transmisia colinergică.

Se consideră, totuși, că receptorii  $\alpha$ -adrenergici au un rol minor în controlul tonusului bronhomotor, având în vedere densitatea lor redusă și faptul că administrarea de prazosin (un blocați  $\alpha_1$ -adrenergic) nu are nici un efect asupra tonusului bronșic la astmatici și care răspund în schimb prin bronhodilatare, la inhalarea de agonști  $\beta$ -adrenergici (FABER J., 1991; MICHOU M. C., 1994).

**Catecolaminele circulante** în astm. În repaus nivelul plasmatic al catecolaminelor este normal la astmatici. În stări de stres, creșterea valorilor adrenalinei și noradrenalinei este întotdeauna mai redusă la acești pacienți decât la subiecții sănătoși (BARNES P. J., 1990 a). Este foarte posibil ca această anomalie să contribuie la HRB, dar ea nu este totuși cauza, pentru că pacienții care suferă o ablație a glandelor suprarenale nu prezintă o HRB.

### 6.1.3. Rolul sistemului nervos nonadrenergic noncolinergic (NANC)

Individualizat recent, cu o componentă excitatoare și una inhibitoare, a fost considerat inițial ca un sistem nervos distinct. Actualmente, se apreciază că este vorba, mai degrabă, de eliberarea la nivelul nervilor autonomi clasici de cotransmițători (BARNES P. J., 1992 a).

– **Sistemul nervos nonadrenergic noncolinergic excitator (NANCe)** – determină bronhoconstricție, creșterea secreției de mucus, vasodilatație și edem, având drept mediatori tahikinine, ca neurokininele A și B, substanța P, *calcitonin – gene – related peptide* (CGRP) și *gastrin releasing peptide* (GRP) (BARNES P. J., 1991 a).

Aceste tahikinine sunt substanțe puternic proinflamatorii, care pot fi eliberate de către unele fibre senzitive C printr-un reflex de axon, având probabil rol în amplificarea și perpetuarea inflamației bronșice (BARNES P. J., 1986 c).

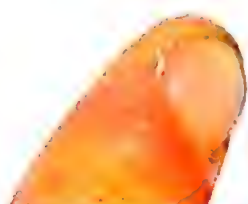
Tahikininele sunt degradate în căile aerifere de enzima de conversie localizată în endoteliul vascular și de endopeptidaza neutră localizată în epiteliul bronșic (BRONSON D. B., 1991).

Creșterea efectelor tahikininelor poate fi atribuită scăderii producției de neuroendopeptidaze datorate distrucțiilor epiteliale descrise în astm sau în infecții virale (BARNES P. J., 1990 b).

### – Sistemul nervos nonadrenergic noncolinergic inhibitor (NANCI)

Acesta este, de fapt, singurul sistem nervos bronhodilatator prezent în căile aerifere umane (DIAMOND L., 1988; BARNES P. J., 1992 a). Principalul mediator al acestui sistem este polipeptidul intestinal vasoactiv (VIP), având un posibil efect neuromodulator asupra neurotransmisiei colinergice, atât la nivel ganglionar, cât și postganglionar, fiind cotransmițător cu acetilcolina (BARNES P. J., 1990 c).

VIP relaxează bronhiile umane *in vitro* (BELVISI G., 1992) și este de aproape 100 ori mai potent decât izoprenalina, fiind mediatorul endogen cel mai puternic (PALMER J.B., 1986). El are, de asemenea, acțiune antiinflamatoare, inhibând eliberarea mediatorilor mastocitari și este un scavenger al speciilor reactive ale oxigenului (SAIA I. S., 1988; BARNES P. J., 1991 a).





În astm, prin studii imunochimice, s-a evidențiat absența receptorilor pentru VIP. De asemenea, prin tehnici histochemice, s-a demonstrat absența VIP pe biopsii de țesut pulmonar de la astmatici. Totuși, absența VIP nu poate fi un factor cauzal, dar reflectă o degradare enzimatică indusă prin fenomene inflamatorii. VIP este degradat rapid de triptaza mastocitară și alte enzime ale celulelor inflamatorii (TONNEL A. B., 1992).

Un alt neurotransmițător posibil al NANCi este oxidul nitric (NO), cu efect bronhodilatator, atât direct asupra mușchiului bronșic, cât și indirect, prin diminuarea eliberării acetilcolinei în terminațiile nervoase colinergice (TUCKER J. F., 1990; BELVISI M. G., 1992; BARNES P. J., 1993). S-a demonstrat că inhibiția sintezei de NO determină o potențare marcată a bronhoconstricției colinergice la cobai *in vitro* (BELVISI M. G., 1991). NO eliberat din nervi sau din alte celule poate fi degradat mai rapid în procesele inflamatorii.

## 6.2. Rolul mediatorilor inflamatori

### 6.2.1. Histamina

Principalele rezerve de histamină se găsesc în mastocitele tisulare și în echivalentul lor sanguin – bazofilele. Ea este stocată în granule, împreună cu heparina, care o protejează de eventuala degradare de către histaminază (FAMAHEY J. P., 1982).

Histamina este un mediator important în procesul inflamator, fiind eliberată rapid după contactul cu antigenul, dar și sub acțiunea unor stimuli non-alergici sau a unor substanțe eliberate de alte celule participante la procesul inflamator, ca diferite citokine, factori chemotactici, proteina bazică majoră eozinofilică, specii reactive ale oxigenului. Se consideră că aceștia din urmă sunt degranulatori efectivi ai mastocitelor (VAN OOSTERHOUT A. J. M., 1990; MICHEL F. B., 1990).

Eliberarea histaminei este, pe de altă parte, inhibată de factori ce cresc nivelul intracelular al AMPc ( $\beta$  simpaticomimetice, PGE, inhibitori ai fosfodiesterazei). Histamina ea însăși inhibă eliberarea ei (KUMACAI Pr. A., 1980).

Histamina este detectabilă în circulație la om, cu valori între 0,2–0,4 ng/ml. Valorile sunt mai mari în cursul dimineții și la astmatici. Au fost evidențiate la astmatici creșteri moderate de histamină în sânge în timpul bronhoconstricției induse de alergeni sau efort și cantități crescute în lavajul bronho-alveolar după provocare cu alergeni sau stimuli hiperosmolari (CHUNG K. F., 1992).

Histamina are efecte multiple asupra căilor respiratorii, ce sunt mediate de trei subtipuri de receptori:  $H_1$ ,  $H_2$ ,  $H_3$  (DOELMAN C. J. A., 1991; BARNES P. J., 1992 a; CHUNG K. F., 1992).

● Subtipul  $H_1$  mediază bronhoconstricția, constricția vaselor pulmonare și creșterea permeabilității venulelor postcapilare. De asemenea, stimulează eliberarea de

neuropeptide din nervii senzitivi în căile aeriene ale plămânului izolat, perfuzat, de cobai (BARNES P. J., 1992 a). Pe lângă efectul direct contractil asupra musculaturii netede mediat de receptorii  $H_1$ , bronhoconstricția rezultă și prin stimularea de către histamină a fibrelor aferente capsaicin senzitive, ce stă la originea unui reflex colinergic. La reflexul colinergic bronhoconstrictor participă și triptaza eliberată o dată cu histamina din mastocite, enzimă ce degradează intens VIP. Acesta este cotransmițător împreună cu acetilcolina și care antagonizează efectul bronhoconstrictor la stimularea fibrelor nervoase colinergice (BARNES P. J., 1991 b).

- Subtipul  $H_2$  – mediază vasodilatația și creșterea secreției de mucus din căile aerifere (DOELMAN C. J. A., 1991). Antagoniștii  $H_2$  nu au efect asupra bronhoconstricției induse de histamină.

- Subtipul  $H_3$ . Acești receptori au rol modulator asupra neurotransmisiei colinergice atât la nivel ganglionar, cât și asupra fibrelor postganglionare. Agonistul selectiv  $\alpha$ -metilhistamină inhibă transmisia colinergică la nivelul căilor respiratorii.

Receptorii  $H_3$  modulează și eliberarea de neuropeptide bronhoconstrictoare din nervii senzitivi. Astfel,  $\alpha$ -metilhistamina inhibă bronhoconstricția NANCe în bronhii de cobai *in vitro*, dar nu afectează răspunsul contractil la substanța P.

Agoniștii selectivi  $H_3$  ar avea un efect benefic în tratamentul astmului, dar este necesară o mare specificitate pentru a nu activa receptorii  $H_1$ , cu declanșarea bronhoconstricției (DOELMAN C. J. A., 1991).

### 6.2.2. Serotonina

Serotonina sau 5-hidroxitriptamina (5-HT), produsă de mastocite și eliberată de mastocite și trombocite, are efect vasoconstrictor pulmonar și bronhoconstrictor. La nivelul căilor aerifere serotonina facilitează eliberarea acetilcolinei din nervii colinergici postganglionari și crește excitabilitatea fibrelor C.

### 6.2.3. Producția ciclooxygenazei

Reprezintă produși de oxidare ai acidului arahidonic (AA). AA este eliberat din fosfolipidele membranare prin activarea fosfolipazei  $A_2$ , o enzimă membranară activată de  $Ca^{2+}$  și capabilă să hidrolizeze diferite fosfolipide, fără specificitate foarte îngustă (CHAP H., 1983). Activarea ei poate fi indusă de creșterea nivelului  $Ca^{2+}$  citoplasmatic, consecutiv stimulării celulare. Cel mai adesea AMPc inhibă eliberarea AA, inhibiție explicată prin stimularea pompei de  $Ca^{2+}$  ATP dependentă. AA este oxidat prin mai multe căi metabolice (RAEBURN D., 1990). Dintre acestea, două sunt căile metabolice majore: ciclooxygenaza și 5-lipooxygenaza (BARNES P. J., 1991 b).

Ciclooxygenaza microzomală generează în prima etapă endoperoxizi instabili  $PGG_2$  și  $PGH_2$ , care apoi sunt metabolizați de enzime specifice la  $PGD_2$ ,  $PGF_{2\alpha}$ ,



PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> sau TxA<sub>2</sub> depinzând de tipul celulelor inflamatorii (BEREZIAT G., 1983; NECHIFOR M., 1993). Efectele acestor prostaglandine sunt mediate prin legarea lor de subtipurile de receptori PG (de exemplu: EP, TP, DT) a căror selectivitate variază în funcție de tipul PG (BARNES P.J., 1991 b).

În mușchiul neted din căile respiratorii, receptorii din subtipul TP mediază răspunsul bronhoconstrictor la mai multe prostaglandine (PGD<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>α, TxA<sub>2</sub>). TxA<sub>2</sub> crește concentrația Ca<sup>2+</sup> citosolic, produce agregarea plachetară și este un agent bronhoconstrictor puternic. PGD<sub>2</sub> și PGF<sub>2</sub>α sunt agenți bronhoconstrictori când sunt administrați prin aerosoli. PGD<sub>2</sub> este de 30 de ori mai activă decât histamina (CHUNG K. F., 1992). PGE<sub>2</sub> este bronhodilatatoare la subiecții astmatici, dar s-au semnalat și răspunsuri bronhoconstrictoare, posibil datorate stimulării fibrelor C vagale aferente.

În timpul bronhoconstricției induse de antigeni la subiecții astmatici s-au măsurat niveluri ridicate de metaboliți ai PGF<sub>2</sub>α și TxB<sub>2</sub> în plasmă și de PGD<sub>2</sub> în fluidul de lavaj bronhoalveolar.

Inhibiția Tx-sintetazei de către OKY-046 și a receptorilor de Tx cu antagonistul AA-2414 îmbunătățesc semnificativ hiperresponsivitatea bronșică la metacolină la subiecți astmatici (CHUNG K. F., 1992). Inhibarea căii ciclooxygenazei cu indometacin nu are efect asupra funcției pulmonare la subiecți normali și astmatici, deși unii astmatici au semnalat o înrăutățire simptomatică după aspirină sau indometacin. S-a sugerat că inhibarea ciclooxygenazei, induce o creștere a sintezei de leucotriene prin 5-lipooxygenază. Aceasta s-a numit diversiune de substrat și ar explica efectele semnalate (RAEBURN D., 1990).

#### 6.2.4. Producții lipooxygenazei

Sub acțiunea 5-lipooxygenazel, acidul arahidonic este metabolizat în intermediarul instabil 5-HPETE (5-hidroperoxieicosatetraenoic acid) și apoi în LTA<sub>4</sub>, care poate fi apoi convertită la LTB<sub>4</sub> sau conjugată prin reducerea glutathionului la LTC<sub>4</sub>. LTC<sub>4</sub> este metabolizată prin clivarea acidului său glutamic terminal, pentru a forma LTD<sub>4</sub> (via γ-glutamyl-transferază). LTD<sub>4</sub> este metabolizată mai departe de către o dipeptidază la LTE<sub>4</sub> – cea mai stabilă LT (se elimină renal după o criză de astm) (BARNES P.J., 1991 a).

Amestecul de LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> și LTE<sub>4</sub> reprezintă SRS-A, căreia îi erau atribuite fenomenele tardive ale reacției alergice (BOYER J., 1983).

LT sunt bronhoconstrictori puternici și inductori ai extravazării plasmei din microcirculație. Pe baza studiilor MEFR 30 (*Maximal Expiratory Air Flow Rate*) la 30% din CV și conductanței specifice la pacienți cu astm, s-a evidențiat că LT afectează atât căile respiratorii centrale, cât și periferice (LEWIS R. A., 1990). LTC<sub>4</sub> și LTD<sub>4</sub> sunt de peste 1000 de ori mai puternic bronhoconstrictoare decât histamina. LTE<sub>4</sub> produce efecte de numai 1% față de LTC<sub>4</sub> și LTD<sub>4</sub>.

Studii clinice sugerează că joacă un rol important în bronhoconstricția din efort și răspunsurile inflamatorii la alergen, deoarece antagoniști puternici ai receptorilor  $LTD_4$  ca MK-571 și ICI-204, 219 determină un efect inhibitor marcat (BARNES P. J., 1991 a; CHUNG K. F., 1992; PERRIN L. F., 1992). De asemenea, produșii 5-lipooxigenazei intervin și în obstrucția indusă de hiperventilație, inhalarea de aer rece, acumularea de eozinofile, bronhoconstricția la aer rece fiind abolită de zileuton, inhibitor de 5-lipooxigenază (FISCHER A.R., 1995).

La nivelul căilor respiratorii s-a evidențiat existența receptorilor pentru  $LTD_4$ , în schimb nu a putut fi identificat în plămânul uman un receptor distinct pentru  $LTC_4$  (LEWIS R. A., 1990). Studii pe bronhie izolată de la pacienți cu astm sugerează că efectele biologice atribuite  $LTC_4$  s-ar datora unei bioconversii în  $LTD_4$ . Leucotrienele administrate ca o injecție bolus pe fâșii de bronhie umană sunt echiactive și produc contracții lente la pornire, dar care durează mai mult decât cele provocate de histamină (BARNES N., 1986). LT par să aibă o acțiune bronhoconstrictoare directă în țesutul pulmonar uman și nu sunt evidențe că ele stimulează eliberarea de  $TxA_2$ , ca în plămânii perfuzați de cobai.

Rezultatele unui studiu efectuat pe mușchi neted traheal izolat de oaie sensibil la antigenul *Ascaris suum* au arătat că  $LTC_4$  și  $LTD_4$  au provocat contracții în funcție de doză, amplitudinea acestora fiind mai mare când era inhibată conversia lor în  $LTE_4$ . Indometacinul n-a avut efect asupra acestor contracții (TOMIOKA K., 1990).

$LTE_4$ , dar nu și  $LTC_4$  sau  $LTD_4$ , mărește tranzitor efectul constrictor al histaminei în căile respiratorii de cobai (DOELMAN C. J. A., 1991).

$LTB_4$  este un agent chemotactic extrem de evident pentru neutrofile. Activează neutrofilele umane pentru a produce eliberarea de enzime lizozomale și anioni superoxid și mărește exprimarea de receptori de suprafață ai complementului pentru neutrofile și eozinofile.

În diverse studii, cisteinil leucotriene au fost identificate în fluidul de lavaj bronhopulmonar, în plasmă ( $LTC_4$  și  $LTD_4$ ) sau urină ( $LTE_4$ ) și în secreții nazale la pacienți sensibili după provocare cu aspirină ( $LTC_4$ ) (AZEVEDO I., 1995).

Referitor la producția de LT din surse celulare, s-a stabilit că ionoforul de calciu  $A_{23187}$  activează eozinofile și generează 25–50 ng de  $LTC_4$ /106 celule, mastocitele produc  $LTC_4$  dar nu  $LTB_4$ , macrofagele în schimb generează o cantitate importantă de  $LTB_4$  ca și neutrofilele. Numai monocitele pot genera cantități comparabile de  $LTB_4$  și  $LTC_4$  ca răspuns la ionoforul de calciu sau stimuli transmembranari (LEWIS R. A., 1990).

Pentru inhibarea LT au fost găsiți mai mulți inhibitori ai 5-lipooxigenazei, dar care, în prezent, au efect relativ slab (BARNES P.J., 1991 a). Altă cale este folosirea inhibitorilor unui cofactor legat de membrană (FLAP, proteina activatoare 5-lipooxigenază) care plasează enzima în opoziție cu substratul său AA în membrana celulară. MK-886 este un astfel de produs care se studiază.





Toate observațiile recente sugerează că inhibarea acțiunii LT ar putea aduce un beneficiu clinic.

- Pe calea **12-lipooxigenazei** se formează hepoxilinele, implicate și ele în bronhoconstricție la astmatici, alături de alți icosanoizi (NECHIFOR M., 1996 a).

- Sub acțiunea **15-lipooxigenazei**, prezentă atât în parenchimul pulmonar, cât și la nivelul bronhiilor, se sintetizează 15-HETE (acid 15-hidroxeicosatetraenoic) și lipoxine (LX), sinteză crescută în astmul bronșic. LXA<sub>4</sub> și LXB<sub>4</sub> au efect bronhoconstrictor. Acesta este dat, în parte, indirect, prin stimularea eliberării de LTC<sub>4</sub> și LTD<sub>4</sub> dar și prin creșterea răspunsului musculaturii netede la factori bronhoconstrictori ca histamina sau LTD<sub>4</sub>. Lipoxina A<sub>4</sub> ar putea fi implicată în bronhoconstricție și prin generarea de TxA<sub>2</sub>.

Un alt mecanism posibil ar fi următorul: în bronhoconstricția dată de stimularea prin factori iritanți a fibrelor nervoase sensibile la capsaicină ar fi implicate lipoxinele și nu alți icosanoizi.

PAF-ul, unul dintre cei mai puternici bronhoconstrictori, stimulează sinteza de lipoxine la nivel bronhopulmonar. În cooperare cu epiteliul bronșic, macrofagele produc și ele cantități crescute de lipoxine în astmul bronșic și în infecții virale, sinteză stimulată de TNF și IL<sub>1</sub> (NECHIFOR M., 1996 a).

În astmul bronșic există interrelații complexe între diferitele clase de icosanoizi, privind acțiunile lor, ca și posibilitatea de transformare a precursorilor sau a unui intermediar dintr-un tip în altul.

Mai importantă decât implicarea fiecărei grupe de eicosanoizi luate izolat, este perturbarea raporturilor dintre variatele clase de lipide biologice active.

#### 6.2.5. PAF (Platelet Activating Factor)

Nu numai în plachetele sanguine, ci și în multe celule inflamatorii fosfolipaza A<sub>2</sub> generează lyso-PAF, care este apoi convertit de către PAF acetiltransferază în mediatorul său activ PAF (VERGNEEGRE A. 1983; BARNES P.J., 1991 a).

Eliberarea PAF are loc numai în prezența Ca<sup>2+</sup> extracelular și a albuminei care devine proteina sa transportoare (HOULIHAN W. J., 1987). PAF are efecte inflamatorii puternice asupra căilor respiratorii și mimează fiziopatologia astmului mai bine decât oricare alt mediator izolat (BARNES P.J., 1991 a).

PAF inhalat produce la om o bronhoconstricție rapidă și mai puternică decât metacolina (CHUNG K. F., 1992). PAF activează o gamă largă de celule inflamatorii *in vitro* incluzând plachetele, neutrofilele și monocitele. În pielea subiecților astmatici injecția intradermală de PAF a dus la o acumulare de eozinofile.

În astmul antigen-indus la cobai, PAF determină bronhoconstricție și infiltrare eozinofilică a căilor aerifere, iar un antagonist de PAF-receptor ( $Y_{24180}$ ) are efect protector; de asemenea, reduce HRB la pacienții astmatici (HOZAWA S., 1995). Interacțiunea dintre PAF și eozinofile poate reprezenta un mecanism autopotențator pentru răspunsul inflamator al căilor respiratorii (CHUNG K. F., 1992).

PAF a fost detectat în plasma astmaticilor în timpul răspunsurilor tardive induse de antigen. Cantități crescute de PAF în fluidul de lavaj bronhoalveolar la astmatici, constituie un element în favoarea rolului activ în astm (STENTON S. C., 1990).

Constricția bronșică produsă de PAF este determinată prin acțiunea directă a PAF-ului pe musculatura netedă respiratorie, prin stimularea de către PAF a sintezei și eliberării unor factori bronhoconstrictori și mai ales icosanoizi, prin creșterea reactivității bronșice la diferiți agenți bronhoconstrictori și reducerea densității  $\beta$ -receptorilor adrenergici la nivel bronhopulmonar (NECHIFOR M., 1996 b).

Efectul bronhoconstrictor al PAF-ului inhalat n-a fost inhibat de medicamente anticolinergice arătând că nu sunt implicate mecanismele reflexului colinergic (SMITH L. J., 1988). În schimb, PAF-ul perfuzat la câine în arterele traheale crește bronhoconstricția ce apare prin stimulare vagală (BETHEL R. A., 1987, citat de NECHIFOR M., 1996 b).

PAF-ul este implicat, de asemenea, în leziunile produse la nivelul epiteliului alveolar și la nivel microvascular, prin eliberarea de enzime lizozomale leucocitare, stimularea sintezei de citokine, liza și detașarea unor părți din endoteliul vascular, creșterea permeabilității vasculare, stimularea formării de radicali peroxidici (NECHIFOR M., 1996 b).

Mai mulți antagoniști ai PAF-ului, actualmente disponibili, inhibă efecte cum ar fi activarea eozinofilelor, bronhoconstricția și permeabilitatea microvasculară crescută a căilor respiratorii (CINNO M., 1986, SUGASAWA T., 1991, citați de NECHIFOR M., 1996 b).

#### 6.2.6. Alți mediatori

**Adenozina** stimulează două tipuri de receptori,  $A_1$  și  $A_2$ , funcțional diferențiați prin interacțiunea lor stimulatorie, respectiv inhibitorie, cu sistemul adenilat-ciclazei. În plus, adenozina mărește eliberarea de mediatori din mastocite stimulate de antigen. Teofilina este un inhibitor al adenozinei și un medicament antiastmatic. În plămân receptorii  $A_2$  sunt predominanți și, probabil, și pe mastocitele căilor aeriene.

Inhalarea adenozinei produce bronhoconstricție la pacienții astmatici, nu și la subiecții normali (POST M., 1989; BARNES P. J., 1992 a). Se consideră că bronho-





constricția indusă de adenzină se datorează, parțial, stimulării sintezei de peptido-leucotriene, derivați 12-lipooxigenazici și alți icosanoizi bronhoconstrictori (VIGANO T., 1987, citat de NECHIFOR M., 1996 a).

**Specii reactive ale oxigenului.** Diferite tipuri de celule ca macrofage, neutrofile, eozinofile și mastocite, activate în timpul proceselor inflamatorii, generează specii reactive ale oxigenului, ca anionul superoxid și peroxidul de hidrogen (CHUNG K.F., 1992). Aceștia au rol important în inflamația și distrucția epitelială în astm (BARNES P. J., 1990 b).

Peroxidul de hidrogen induce contracția mușchiului neted al căilor aerifere (RHODEN K. J., 1989) și a fost implicat în hiperreactivitatea bronșică la modele animale (KATSUMATA U., 1990). Efect contractil are și acidul hipocloros asupra musculaturii netede traheale de cobai, care este prevenit de N-acetilcisteină.

În astmul bronșic crește injuria oxidantă în urma distrucțiilor epiteliale, prin reducerea apărării antioxidante. De asemenea, la astmatici a fost dovedită scăderea concentrației sanguine atât a unor scavengeri enzimatici ai speciilor reactive ale oxigenului, ca superoxid dismutaza (SOD) și glutatión-peroxidaza (GSH-Px), cât și a seleniului (NATARAJAN V., 1995).

Acidul ascorbic în concentrații mari, reduce bronhoconstricția la subiecții astmatici (CHUNG K.F., 1992).

Speciile reactive ale oxigenului induc o disfuncție a  $\beta$ -adrenoreceptorilor (ENGELS F., 1985), cu un dezechilibru între receptorii  $\beta$ -adrenergici și muscarinici (GUPTA B. J., 1992; SANDOR S., 1993; OLINESCU R., 1994). Se adaugă activarea de către speciile reactive ale oxigenului a fosfolipazei  $A_2$ , cu declanșarea cascadei acidului arahidonic, în timpul căreia se eliberează, de asemenea, specii reactive ale oxigenului, sugerând că, parțial, efectul contractil al acestora se datorează acțiunii produșilor rezultați din metabolizarea acidului arahidonic, ca tromboxan, prostaglandine, leucotriene (OLINESCU R., 1994; STEVENS W. H. M., 1995).

Faptul că indometacinul atenuează răspunsul contractil al peroxidului de hidrogen este o dovadă a participării produșilor ciclooxigenazei la acest efect (CHUNG K. F., 1992). De asemenea, speciile reactive ale oxigenului produse în timpul proceselor inflamatorii, la rândul lor, au rol în eliberarea mastocitară a histaminei, mediator cu rol important în hiperreactivitatea bronșică (VAN OOSTERHOUT A. J. M., 1990; MICHEL F. B., 1990).

**Kininele.** Bradikinina este un puternic constrictor al căilor aeriene la astmatici *in vivo*, dar acest efect este slab la nivelul căilor aerifere umane *in vitro* (FULLER R. W., 1987; BARNES P. J., 1992 c). Inhalarea bradikininei produce o senzație de dispnee foarte asemănătoare cu cea din timpul crizei de astm și susține ideea că bradikinina acționează asupra nervilor senzitivi din căile aerifere, cu declanșarea

unui reflex colinergic (FULLER R. W., 1987). Acest efect bronhoconstrictor este redus de un anticolinergic și, de asemenea, de cromolinul de sodiu și nedocromilul de sodiu, care ar putea acționa asupra nervilor senzitivi (FULLER R. W., 1987; DIXON C. M., 1989). La cobai, bronhoconstricția indusă de bradikinină este pronunțat redusă de atropină și de depleția de capsaicină a nervilor senzitivi (ICHINOSE M., 1990).

**Anafilatoxinele.** Anafilatoxinele,  $C_{3a}$  și  $C_{5a}$ , peptide generate de cascada complementului, sunt agenți chemotactici și induc creșterea permeabilității microvasculare, iar  $C_{5a}$  contractă mușchiul neted aerifer (REGAL J. F., 1989).

Cunoștințele sunt reduse în ce privește rolul acestor peptide în astmul uman, deși este probabil că ele produc un exsudat plasmatic în căile aerifere.

## BIBLIOGRAFIE

1. American Thoracic Society. *Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma*. Am. Rev. Resp. Dis., 1987, 136: 225–244.
2. LOCKHART A., MALO J. L., *Hyperréactivité bronchique. Definition (s) et historique*. Rev. Mal. Resp., 1994, 11, 85–92. Masson, Paris.
3. FOLKERTS G., *Virus – induced Hyperresponsiveness*. Promotor prof. dr. F. P. Nijkamp, Amsterdam, 1991.
4. MICHOU D. M. C., LERORIER J., AMYOT R., *Factors modulating the inter-individual variability of airway responsiveness to histamine. The influence of  $H_1$  and  $H_2$  receptors*. Bull. Eur. Physiopathol. Respir., 1981, 17: 807–821.
5. WOOLCOCK A. J., SALOME C. M., YAN K., *The shape of the dose response curve to histamine in asthmatic and normal subjects*. Am. Rev. Respir. Dis., 1984, 130: 71–75.
6. TOWNLEI R. G., CHENG J., BEWTRA A. K., NAIR N., HOPP R., AGRAWAL D. K., *The role of calcium channel blockers in reaction airway disease*. Annals New-York Academy of Science, 1988, 522: 734–745.
7. BLACK J. L., ARMOUR C. L., *Induction of Hyperresponsiveness in Human Airways in Vivo and in Vitro*. Review, Pulmonary Pharmacology, 1989, 2, 4; 169–178.
8. LEWIS A. R., AUSTEN K. Fr., SOBERMAN R. J., *Leucotrienes and other products of the 5-lipoxygenase pathway. Biochemistry and relation to pathobiology in human diseases*. New Engl. J. of Med., 1990, 323, 10: 645–652.
9. CALDERON E., LOCKEY R., *A possible for adhesion molecules in asthma*. J. Allergy Clin. Immunol., 1992, 90, 5: 952–963.





10. VAN OOSTERHOUT A. J. M., NIHKAMP F. P., *Lymphocytes and bronchial hyperresponsiveness*. Life Science, 1990, 46: 1256–1264.
11. FABER J., VAN MEERHAEGHE A., *Asthme et hyperréactivité bronchique. Nouveaux concepts*. Rev. Med. Brux., 1991, 12: 9–18.
12. BARNES P. J., *Neural control of airway function: new perspectives*. Molec. Aspects Med., 1990a, 11: 351–423.
13. BARNES P. J., *Modulation of neurotransmission in airways*. Physiological Reviews, 1992a, 72: 699–729.
14. MICHOD M. C., FAJAC I., FROSSARD N., *Hyperréactivité bronchique: facteurs neurogènes*. Rev. Mol. Resp., 1994, 11: 131–140.
15. BARNES P. J., *Muscarinic receptor subtypes in airways*. Eur. Respir. J., 1993, 6: 328–331.
16. LAMMERS J. W., MINETTE P., McCUSKER M., BARNES P. J., *The role of pirenzepine sensitive ( $M_1$ ) muscarinic receptors in vagally mediated bronchoconstriction in humans*. Am. Rev. Respir. Dis., 1989, 139: 446–449.
17. BARNES P. J., *Neural mechanism in Asthma*. British Medical Bulletin, 1992b, 48, 1: 149–168.
18. CASALE B. T., *Bronchial Hyperreactivity neural Contributions, in Airways Neural Control in health and Disease, Lung biology in health and Disease*, 1988, vol. 33, 467–485.
19. MINETTE P. A., BARNES P. J., *Muscarinic receptor subtypes in airways: function and clinical significance*. Am. Rev. Respir. Dis., 1990, 141: S162–165.
20. BARNES P. J., BARANIUK N. J., BELVISI G. M., *Neuropeptides in the Respiratory Tract: part I*. Am. Rev. Resp. Dis., 1991a; 144: 1187–1198; part II: 1391–1399.
21. BARNES P. J., *Cytokines as mediators of chronic asthma*. Am J. Respir. Crit. Care Med., 1994, 50: S42–S49.
22. BARRETT E. K., BIGBY D. T., *New roles for eicosanoids as regulators of epithelial function and growth*. NIPS, 1995, 10: 153–159.
23. JANSSEN L. J., DANIEL E. E., *Pre- and postjunctional muscarinic receptors in canine bronchi*. Am. J. Physiol. 259 (Lung Cell. Mol. Physiol. 3): 1990, L304–L314.
24. BARNES P. J., *Reviews biochemistry of asthma*, TIBS-16 october 1991b, Elsevier Science Publishers.
25. GODARD Ph., CHANEZ P., CAMPBELL A., VACHIER I., DAMON M., BOUSQUET J., MICHEL F. B., *Epithelium bronchique et asthma*. Med. et Hyg., 1990, 48: 2293–2296.
26. BARNES P. J., *Endogenous catecholamines and asthma*. J. Allergy. Clin. Immunol., 1986a, 77: 791–795.
27. COBURN R. F., BARON C. B., *Coupling mechanism in airway smooth muscle*. Am. J. Physiol. (Lung Cell. Moll. Physiol.), 1990, 258: L119–L133.
28. POTTER E. K., *Neuropeptide Y as an autonomic neurotransmitter (review)*. Pharmacol. Ther., 1988, 37: 251–273.

29. STRETTON C. D., BARNES P. J., *Modulation of cholinergic neurotransmission in guinea pig trachea by neuropeptide Y*. Br. J. Pharmacol., 1988, 93: 672–678.
30. BAI T. R. *Beta<sub>2</sub> adrenergic receptors in asthma: a current perspective*. Lung 1992, 170: 121–141.
31. CARSTAIRS J. R., NIMMO A. J., BARNES P. J., *Autoradiographic visualization of beta-adrenoreceptor subtypes in human lung*. Am. Rev. Respir. Dis., 1985, 132: 541–547.
32. SZENTIVANYI A., *The beta-adrenergic theory of the atopic abnormality in bronchial asthma*. J. Allergy, 1968; 42: 203–232.
33. O'CONNOR B. J., AIKMAN S. L., BARNES P. J., *Tolerance to the non bronhodilator effects of inhaled beta<sub>2</sub> agonists in asthma*. N. Engl. J. Med., 1992, 327: 1204–1208.
34. BARNES P. J., *Neural control of human airways in health and disease*. Am. Rev. Respir. Dis., 1986b, 134: 1289–1314.
35. LOCKART A., DINH-XUAN A. T., REGNARD J., CABANES L., MATRAN R., *Effect of airway blood flow on airflow (review)*. Am. Rev. Respir. Dis., 1992, 146: S19–23.
36. BARNES P. J., *Asthma as an axon reflex*. Lancet, 1986c, 1, 242–245.
37. BORSON D. B., *Roles of neutral endopeptidase in airways*. Am. J. Physiol., 1991, 260: L212–225.
38. BARNES P. J., DOELMAN C. J. A., *Reactive species and airway inflammation, in Free Radical Biology and Medicine*, 1990b, 9: 235–243.
39. BARNES P. J., *Neuropeptides as modulators of airway function*. In AAS31: Mediators in Airway Hyperreactivity. Eds: Nijkamp E. et al., Birkhauser Verlag, Basel, 1990c: 175–196.
40. BELVISI M. G., STRETTON D. et al., *Inhibitory NANC nerves in human tracheal smooth muscle, a quest for the neurotransmitter*. J. Appl. Physiol., 1992, 73: 2505–2510.
41. PALMER J. B., CUSS F. M. C., BARNES P. J., *VIP and PHM and their role in non-adrenergic inhibitory responses in isolated human airways*, J. Appl. Physiol., 1986, 61: 1322–1328.
42. SAID I. S., *VIP in the airways, in airways: Neural Control in Health and Disease*, Lung Biology in Health and Disease, 1988, 33: 395–417.
43. TONNEL A. B., MARGUETTE C., WALLAERT B., *Physiopathologie de l'asthme*. Rev. prat. (Paris), 1992, 42 (19): 2399–2404.
44. TUCKER J. F., BRAVE S. R., CHARALAMBOUS L., HOBBS A. J., GIBSON A., *L-NG-nitro arginine inhibits non-adrenergic non-cholinergic relaxation of guinea-pig isolated tracheal smooth muscle*, Br. J. Pharmacol., 1990, 100: 663–664.
45. BELVISI M. G., STRETTON D., BARNES P. J., *Nitric oxide modulates cholinergic neuro-transmission in guinea pig tracheal smooth muscle*. Eur. J. Pharmacol., 1991, 198: 219–221.



78. DIXON C. M. S., BARNES P. J., *Bradykinin induced bronchoconstriction: inhibition by nedocromil sodium and sodium cromoglycate*. Br. J. Clin. Pharmacol., 1989, 270: 8310-8360.

79. ICHINOSE M., BELVISI M. G., BARNES P. J., *Bradykinin induced bronchoconstriction on guinea-pig in vivo: role of neural mechanism*. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1990, 253: 1207-1212.

80. REGAL J. F., *The role of C5a in hypersensitivity reactions in the lung*. Pulm., Pharmacol, 1989, 2: 3-12.

## 7. CERCETĂRI EXPERIMENTALE PE ORGAN IZOLAT ASUPRA BRONHOMOTRICITĂȚII

Obiectivul urmărit a fost demonstrarea efectelor constrictoare ale unor substanțe biologic active și prevenirea, respectiv reducerea, acestor efecte de către unele blocante ale canalelor de calciu sau de către catecolamine.

Cercetările au fost efectuate pe trahee izolată de cobai, având în vedere că aceasta prezintă caracteristici ultrastructurale și ale inervației asemănătoare cu ale bronhiilor mici umane (DANIEL E.E., 1986). Cobaii masculi, în greutate de 250–300 g, au fost sacrificați pe fond de narcoză, după care s-a prelevat porțiunea superioară a traheei. Aceasta a fost apoi secționată în spirală și plasată în baie de organ cu soluție Tyrode, termostatat la 37°C și barbotat cu aer, iar pentru urmărirea contractilității musculaturii netede traheale s-a utilizat un traductor de forță care înregistrează contracția izomerică redată pe un iscriptor XY (MIHALAȘ G., 1989; PETROIU A., 1994 a).

### 7.1. Efectul contractil al acetilcolinei, histaminei și al alcoolului

#### 7.1.1. Efectul contractil al acetilcolinei

Acetilcolina, mediatorul chimic postganglionar vagal, prin intermediul receptorilor muscarinici  $M_3$ , determină contracția musculaturii netede traheo-bronșice, vasodilatație și stimularea secreției de mucus (JANSSEN L. Y., 1990; BARNES J. P., 1992).

Urmărind relația doză-efect asupra musculaturii netede de trahee izolată de cobai, se constată că răspunsul contractil al acetilcolinei se manifestă începând cu concentrația  $4 \cdot 10^{-8}$  M și este maxim la  $2 \cdot 10^{-5}$  M (vezi fig. 7/1):

- la concentrația acetilcolinei de  $4 \cdot 10^{-8}$  M, contracția reprezintă 1,6% ( $\pm 0,6$ ) din cea maximă:



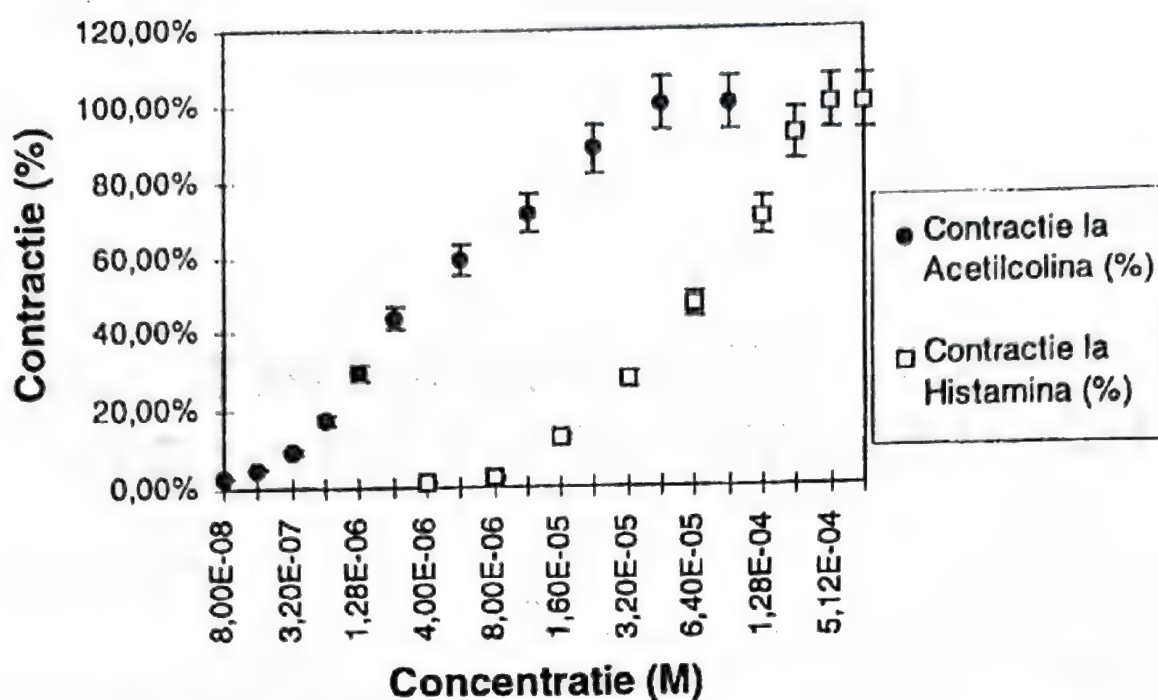


Fig. 7.1 – Efectul comparativ al acetilcolinei și histaminei (curbe doză–efect)

- la  $8.10^{-8}$  M – de 2,63% ( $\pm 0,55$ );
- la  $1,6.10^{-7}$  M – de 4,88% ( $\pm 2,35$ );
- la  $3,2.10^{-7}$  M – de 9,64% ( $\pm 2,73$ );
- la  $6,4.10^{-7}$  M – de 17,64% ( $\pm 3,59$ );
- la  $1,28.10^{-6}$  M – de 29,71% ( $\pm 5,34$ );
- la  $2,56.10^{-6}$  M – de 43,68% ( $\pm 6,62$ );
- la  $5,12.10^{-6}$  M – de 59,18% ( $\pm 6,9$ );
- la  $1,02.10^{-5}$  M – de 71,30% ( $\pm 7,56$ );
- la  $2,04.10^{-5}$  M – de 88,28% ( $\pm 8,07$ );
- la  $4,09.10^{-5}$  M și  $8,18.10^{-5}$  M – de 100% (SCHNEIDER F., 1991).

### 7.1.2. Efectul contractil al histaminei

Histamina determină, printre alte efecte asupra căilor respiratorii, bronhoconstricție, produsă parțial printr-un efect direct asupra receptorilor  $H_1$  de pe fibra musculară netedă și parțial prin activarea unui reflex colinergic, prin stimularea de către histamină a fibrelor aferente capsaicin sensibile (CHUNG K. F., 1992; BARNES P. J., 1992).

Efectul contractil al histaminei, în concentrație de tip doză–efect, apare la  $8.10^{-6}$  M și este maxim la  $5.10^{-4}$  M (vezi fig. 7/1):

- la concentrația de  $4.10^{-6}$  M, contracția reprezintă 1,22% ( $\pm 0,31$ ) din cea maximă;
- la  $8.10^{-6}$  M contracția este de 2,44% ( $\pm 0,94$ );

- la  $1,6 \cdot 10^{-5}$  M – de 12,83% ( $\pm 0,83$ );
- la  $3,2 \cdot 10^{-5}$  M – de 27,59% ( $\pm 5,58$ );
- la  $6,4 \cdot 10^{-5}$  M – de 46,98 ( $\pm 13,81$ );
- la  $1,28 \cdot 10^{-4}$  M – de 69,95% ( $\pm 6,49$ );
- la  $2,56 \cdot 10^{-4}$  M – de 91,87% ( $\pm 4,29$ );
- la  $5,12 \cdot 10^{-4}$  M – de 100% (PETROIU A., 1993).

Se constată că pentru a obține o curbă de tip doză-efect la histamină, concentrațiile sunt mai mari decât cele de acetilcolină, musculatura netedă traheală fiind mult mai sensibilă la aceasta din urmă, care este și mediatorul ce se eliberează în condiții fiziologice (vezi fig. 7/1).

### 7.1.3. Efectul alcoolului asupra musculaturii netede de trahee de cobai

Consumul de alcool, în continuă creștere, a reprezentat obiectul unor numeroase studii. Majoritatea, însă, s-au preocupat de efectele asupra sistemului nervos și a ficatului. Studii privind efectele asupra altor organe sunt relativ reduse și cu rezultate contradictorii (RUSU B., 1988).

Semnalări privind efectul bronhomotor al alcoolului sunt și mai reduse și se referă doar la utilizarea unor concentrații mici, care nu modifică acțiunea unor substanțe bronhomotoare. Se consemnează, în schimb, efectele alcoolului și acetaldehidei asupra motilității cililor celulelor epiteliale din căile aerifere. Astfel, alcoolul, în concentrații mici, de 10 mM, stimulează motilitatea ciliară prin eliberarea oxidului nitric via reglarea oxid nitric sintetazei (SISSON J. M., 1995). În schimb, metabolitul alcoolului – acetaldehida, dependent de concentrație și timpul de acțiune, deprimă motilitatea ciliară până la anulare. Acest efect observat la acetaldehidă, nu și la alcool, se realizează prin inhibarea activității unei ATP-aze ciliare (SISSON J. M., 1991, 1994).

Se pune, însă, problema efectelor alcoolului consumat abuziv și cronic, situații în care aparatul bronho-pulmonar este „bombardat” de concentrația crescută a alcoolului sanguin și a produșilor săi de metabolism – acetaldehidă, acetat, ca și de eliminarea alcoolului pe cale pulmonară. Se adaugă formarea de radicali liberi ai oxigenului în timpul metabolizării alcoolului, unii dintre ei având efect bronhoconstrictor (ȘANDOR S., 1993). De asemenea, trebuie decelat efectul alcoolului de cel al unor substanțe farmacologice cu efect bronhomotor, când alcoolul este utilizat ca solvent pentru acestea din urmă.

Prin prisma celor de mai sus s-au efectuat studii experimentale privind efectul alcoolului asupra musculaturii netede traheale de cobai.

După plasarea spiralei de trahee de cobai în baie de organ, se urmărește tonusul de fond al preparatului. Acesta continuă să se relaxeze ușor și după expirarea timpului de o oră, conform protocolului.



Adăugarea de alcool în concentrație de  $1,4 \cdot 10^{-2}$  M nu modifică contracția indusă de  $\text{Cl}_2\text{Ba}$  ( $2 \cdot 10^{-3}$  M) (SCHNEIDER F., 1991). Acest aspect este în concordanță cu unele date din literatură, conform cărora, în anumite concentrații, alcoolul nu modifică contracția determinată de diferite substanțe, ca acetilcolina, histamina,  $\text{Cl}_2\text{Ba}$ , CIK (FANTA M. C., 1985).

După testarea reactivității preparatului cu histamină ( $10^{-5}$  M), se utilizează alcool în concentrații crescânde, de tip doză-efect. Se constată că acesta, în concentrații între  $1,4 \cdot 10^{-2}$  și  $5,6 \cdot 10^{-2}$  M, crește treptat tonusul de fond, ca începând de la concentrații de  $11,2 \cdot 10^{-2}$  M să determine un efect contractil proporțional cu doza.

Până la concentrația de  $44,1 \cdot 10^{-2}$  M, contracția se menține, la 30 minute preparatul încă mai este contractat în proporție de 90%.

La  $88,3 \cdot 10^{-2}$  M, contracția se reduce treptat de la 100% la 42% în 30 minute.

La concentrația de 1,7 M se instalează efectul toxic, concretizat prin relaxarea preparatului, în două-trei minute. Uneori, înainte de relaxare, apare un mic croșet contractil. După spălare, preparatul nu mai răspunde la agenți constrictori (exemplu la histamină) (vezi fig 7/2) (PETROIU A., 1995).

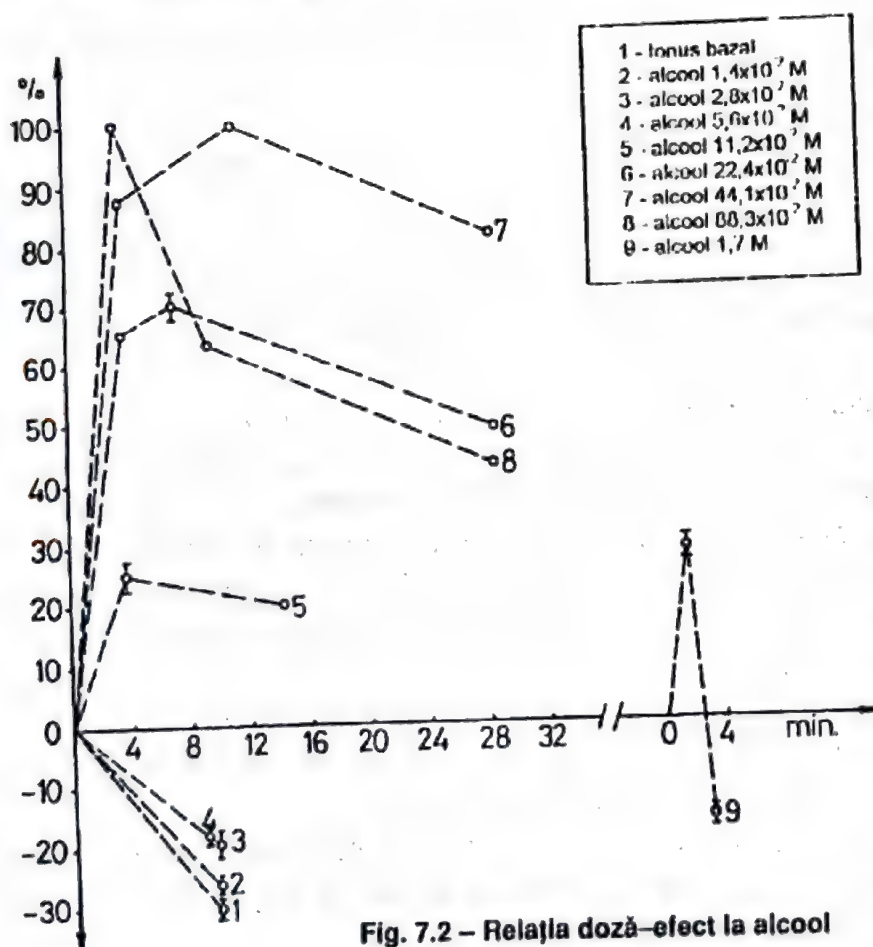


Fig. 7.2 - Relația doză-efect la alcool

În concluzie, alcoolul, până la atingerea dozei toxice, are un efect contractil asupra musculaturii netede traheale de cobai proporțional cu doza.

Din datele din literatură, având în vedere acțiunea alcoolului în general asupra membranelor, se consideră că acesta poate acționa prin:

- eliberarea de radicali liberi ai oxigenului, din care, unii au efect contractil asupra musculaturii netede traheo-bronșice *in vitro*, prin mai multe mecanisme, responsabile și de un deze-

chilibrul între receptorii  $\beta$ -adrenergici și muscarinici (GUPTA B., 1992; ȘANDOR S., 1993);

- creșterea fluxului transmembranar de calciu din stocurile intracelulare (NECHIFOR M., 1993);

- prin ambele mecanisme se activează fosfolipaza  $A_2$ , cu declanșarea cascadei acidului arahidonic, în timpul căreia se eliberează, de asemenea, radicali liberi ai oxigenului, posibilitate prin care alcoolul se interferează complex cu metabolismul eicosanoizilor (NECHIFOR M., 1993; OLINESCU R., 1994).

În această ultimă idee, s-a urmărit influența indometacinului asupra contracției la alcool. Preincubarea cu indometacin – inhibitor de ciclooxygenază, dar și al efectului contractil indus de radicali liberi ai oxigenului, influențează contracția la alcool în funcție de concentrația de indometacin și de durata preincubării.

Preincubarea cu indometacin  $10^{-4}$  M, timp de 15 minute, nu influențează contracția la alcool (vezi **fig. 7/3**). Contracția este anulată la concentrația de indometacin  $10^{-3}$  M preincubat 30 de minute, în timp ce preparatul răspunde la alți agenți constrictori (exemplu la histamină) (vezi **fig. 7/4**). Această anulare a contracției alcoolice de către indometacin este în concordanță cu datele din

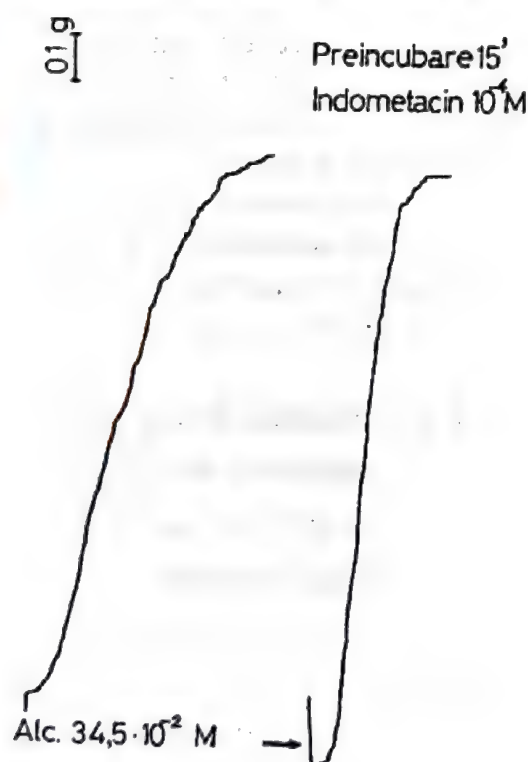


Fig. 7.3 – Preincubarea cu indometacin  $10^{-4}$  M nu influențează efectul contractil al alcoolului

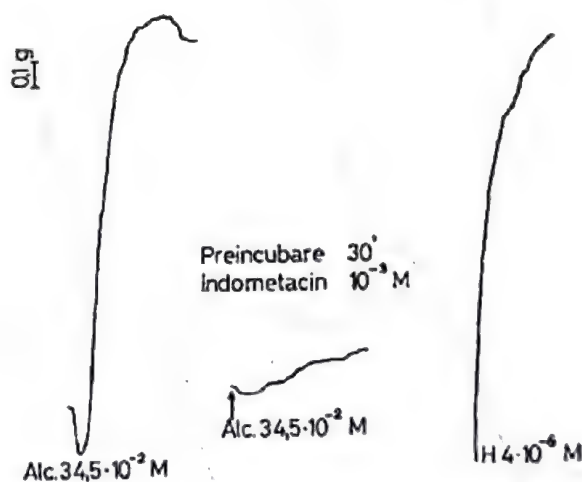


Fig. 7.4 – Preincubarea cu indometacin  $10^{-3}$  M anulează contracția indusă de alcool



literatură care susțin posibilitatea de interferare complexă a alcoolului cu metabolismul eicosanoizilor.

De asemenea, s-au urmărit interrelațiile posibile între acțiunea alcoolului și contracția la histamină sau acetilcolină. Dacă pe fondul contractil indus de histamină ( $4 \cdot 10^{-6}$  M) sau acetilcolină ( $10^{-7}$  M) sau  $\text{Cl}_2\text{Ba}$  ( $2 \cdot 10^{-3}$  M) se adaugă alcool în baie, acesta nu modifică contracția până la concentrația de  $4,14 \cdot 10^{-2}$  M, iar la concentrații mai mari nu există o potențare a efectelor lor, ci acestea se însumează. Același efect se constată și prin adăugarea histaminei sau acetilcolinei pe fondul contractil indus de alcool (vezi fig. 7/5).

Se poate, deci, concluziona că nu există nici un efect de potențare de către etanol a contracției la histamină sau acetilcolină.

Alte experiențe au avut drept scop urmărirea unor posibile interrelații între acțiunea alcoolului și mediația colinergică, respectiv adrenergică. Astfel s-au studiat efectele alcoolului după tripla blocare: cu atropină (blocant neselectiv al receptorilor muscarinici  $M_1$  și  $M_2$ ), propranolol (blocant neselectiv  $\beta$ -adrenergic) și tolazolin

(blocant neselectiv  $\alpha$ -adrenergic). Preincubarea 30 de minute cu una din aceste substanțe sau cu toate trei, în concentrații fiecare între  $10^{-5}$  M și  $10^{-4}$  M nu modifică răspunsul contractil la alcool.

Se poate concluziona că blocarea colinergică sau adrenergică nu influențează contracția la alcool (vezi fig. 7/6).

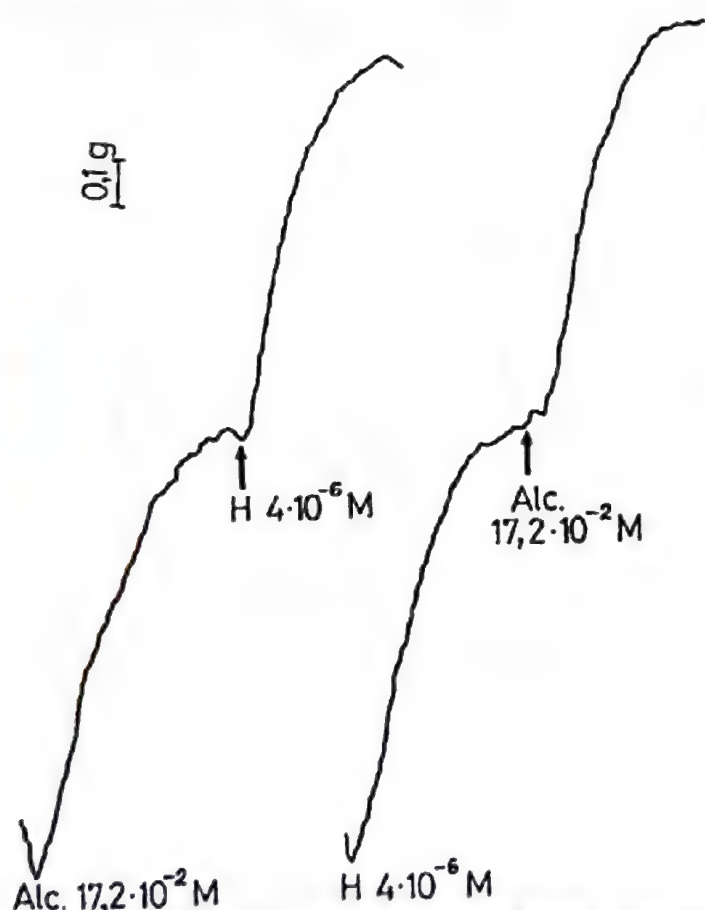


Fig. 7.5 – Însumarea efectelor contractile ale alcoolului și histaminei

## 7.2. Influența blocantelor canalelor de calciu asupra tonusului bronhomotor

Contracția musculaturii netede a căilor respiratorii, eliberarea de mediatori, secreția glandelor mucoase, activitatea reflexă colinergică – fenomene implicate în hiperreactivitatea bronșică – sunt, toate, calciu

dependente. Pentru reducerea disponibilității intracelulare a calciului, diferite cercetări au urmărit rolul blocanților canalelor de calciu (BCCa) în profilaxia și tratamentul astmului bronșic.

În acest sens, s-a urmărit experimental, pe traheea izolată de cobai, acțiunea comparativă a nifedipinei și verapamilului ca blocante ale canalelor de calciu, de reducere, respectiv prevenire, a contracției la  $\text{Cl}_2\text{Ba}$ , ClK, histamină și acetilcolină (SCHNEIDER FR., 1991; PETROIU A., 1993, 1994 b, 1996).

### 7.2.1. Efectul nifedipinei de reducere a contracției induse de $\text{Cl}_2\text{Ba}$

Efectul relaxant al nifedipinei ( $2 \cdot 10^{-6}$  M;  $4 \cdot 10^{-6}$  M) pe fond de contracție indusă de  $\text{Cl}_2\text{Ba}$  în concentrație de  $5 \cdot 10^{-3}$  M,  $10^{-2}$  M și  $4 \cdot 10^{-2}$  M, se instalează după o latență de aproximativ două minute și relaxarea este de 100% în 4–10 minute, efectul fiind mai rapid în primele două minute (vezi fig. 7/7).

### 7.2.2. Acțiunea nifedipinei asupra contracției induse de ClK

Nifedipina, în concentrații mici ( $2 \cdot 10^{-6}$  M) anulează contracția la ClK ( $3 \cdot 10^{-2}$  M) (vezi fig. 7/8).

Efectul relaxant este asemănător cu cel observat asupra contracției determinate de  $\text{Cl}_2\text{Ba}$ .

### 7.2.3. Acțiunea comparativă a nifedipinei și verapamilului de reducere a contracției la histamină și acetilcolină

#### 7.2.3.1. Acțiunea nifedipinei de reducere a contracției la acetilcolină

Pe fondul contracției determinate de acetilcolină ( $2 \cdot 10^{-7}$  M), s-au utilizat concentrații crescânde de nifedipină –  $10^{-5}$  M;  $5 \cdot 10^{-5}$  M;  $10^{-4}$  M.

Efectul de anulare a contracției este mult mai lent comparativ cu cel asupra contracției la  $\text{Cl}_2\text{Ba}$  și ClK. La 30 minute relaxarea este de 85% la concentrația nifedipinei de  $10^{-5}$  M; de 100% la  $5 \cdot 10^{-5}$  M și tot de 100%, dar în 20 minute, la

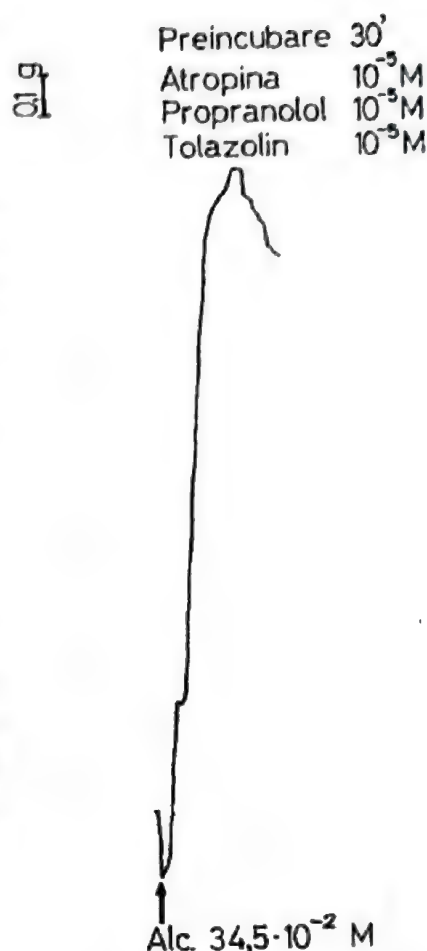


Fig. 7.6 –Blocarea colinergică și adrenergică nu modifică răspunsul contractil la alcool



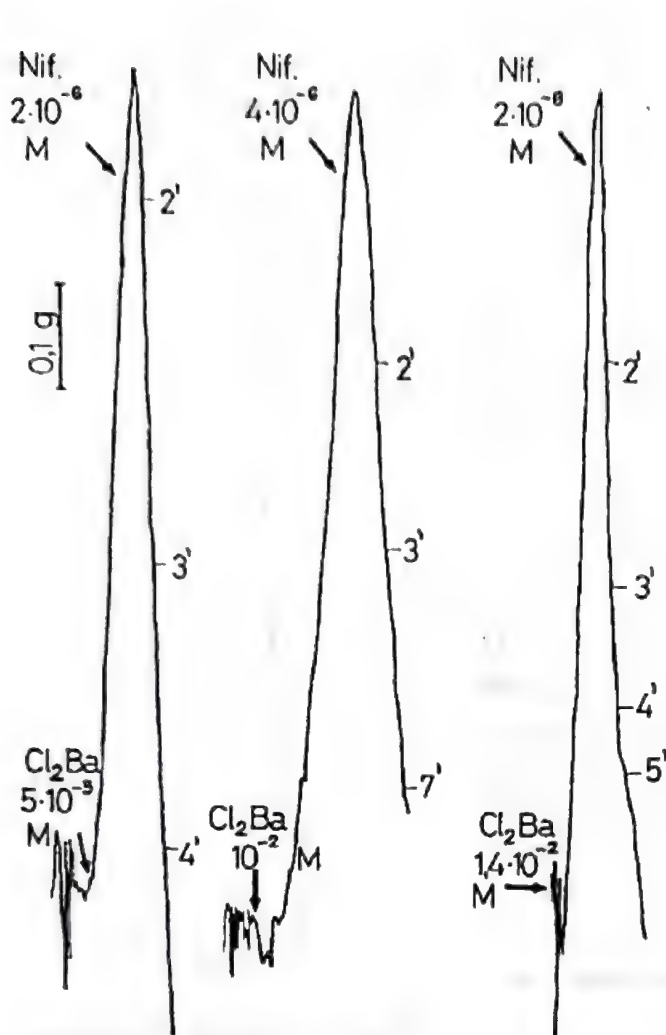


Fig. 7.7 –Efectul nifedipinei de reducere a contracției induse de  $\text{BaCl}_2$



Fig. 7.8 – Efectul nifedipinei de reducere a contracției induse de KCl

concentrația de  $10^{-4}$  M. După spălare, preparatul răspunde din nou la acetilcolină, cu o amplitudine asemănătoare celei inițiale.

Deci, nifedipina anulează sau reduce, în mare măsură, contracția determinată de acetilcolină (vezi fig. 7/9).

#### 7.2.3.2. Acțiunea verapamilului de reducere a contracției la acetilcolină

Verapamilul ( $5 \cdot 10^{-6}$  M) anulează 100% contracția la acetilcolină ( $10^{-6}$  M) în 18 minute, după care, adaosul repetat de acetilcolină, chiar în exces de calciu, nu determină contracție, sau contracția este mult mai redusă, aspect ce se poate explica prin locusul diferit de legare în canalul de calciu al verapamilului față de nifedipină.

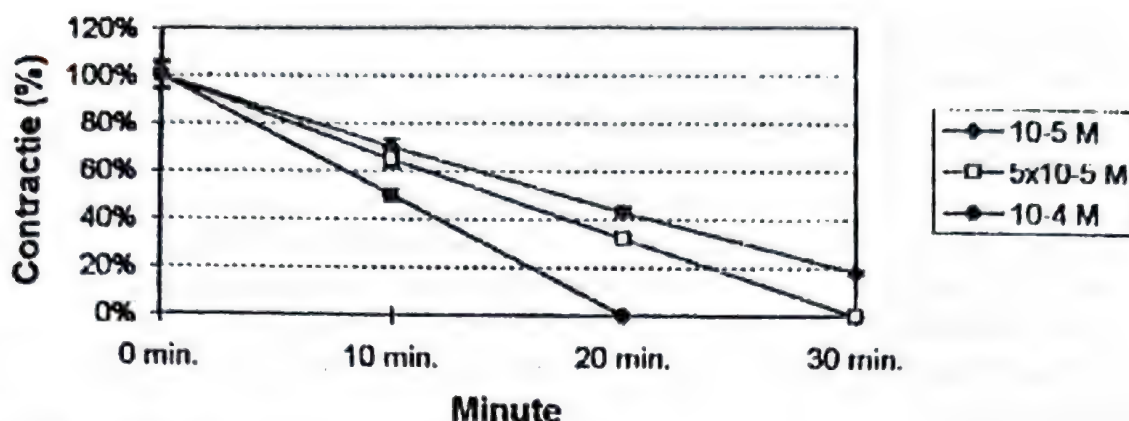


Fig. 7.9 – Acțiunea nifedipinei (la diferite concentrații) de reducere a contracției la acetilcolină (în concentrație constantă de  $2 \times 10^{-7} \text{ M}$ )

#### 7.2.3.3. Acțiunea nifedipinei de reducere a contracției la histamină

Pentru inducerea contracției, s-a utilizat o doză constantă de histamină  $4 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ , iar pentru reducerea acestei contracții, s-au folosit concentrații crescânde de nifedipină ( $10^{-5} \text{ M}$ ;  $5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ;  $10^{-4} \text{ M}$ ).

Contracția indusă de histamină  $4 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ , este redusă la nifedipină, la concentrația de  $10^{-5} \text{ M}$ , la 53% ( $\pm 10$ ) în 30 minute; la concentrația de  $5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ , la 33% ( $\pm 7$ ), tot în 30 minute; la concentrația de  $10^{-4} \text{ M}$ , relaxarea este de 100%, în 24 minute ( $\pm 1$ ) (vezi fig. 7/10).

Se poate observa că nifedipina reduce semnificativ ( $p < 0,05$ - $p < 0,01$ ) contracția la histamină, reducere ce este mai accentuată și într-un timp mai scurt, o dată cu creșterea concentrației.

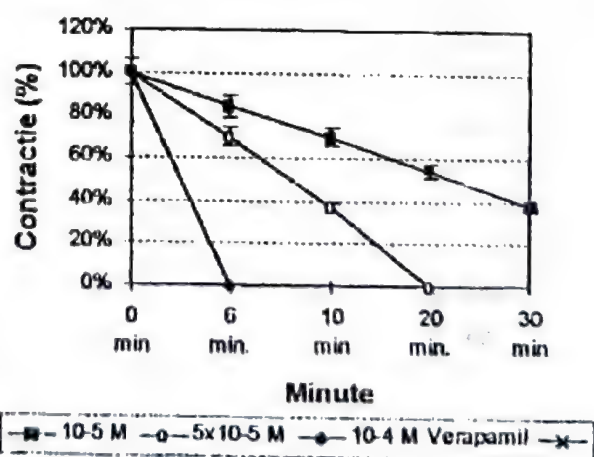
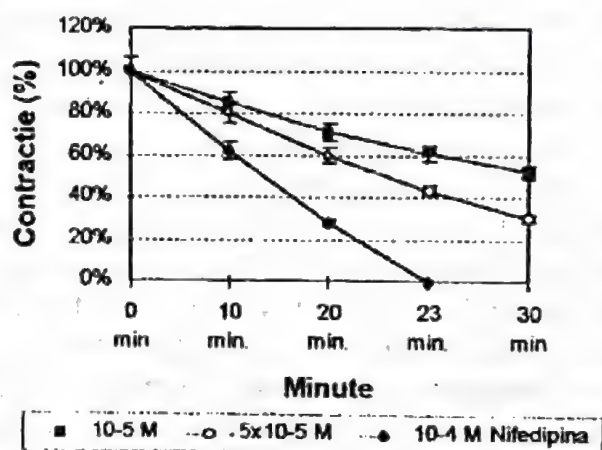


Fig. 7.10 – Acțiunea comparativă a nifedipinei și verapamilului de reducere a contracției induse de histamină



#### 7.2.3.4. Acțiunea verapamilului de reducere a contracției la histamină

S-a utilizat aceeași concentrație de histamină ( $4 \cdot 10^{-5}$  M) pentru inducerea contracției, iar concentrațiile de verapamil au fost aceleași cu ale nifedipinei.

Verapamilul  $10^{-5}$  M reduce contracția la histamină la 37% ( $\pm 20$ ) ( $p < 0,05$ ) în 30 ( $\pm 6$ ) minute; la concentrația de  $5 \cdot 10^{-5}$  M, contracția se reduce la 3% ( $\pm 6$ ) ( $p < 0,01$ ) în 21 ( $\pm 9$ ) minute; la concentrația de  $10^{-4}$  M, contracția este anulată (relaxarea este de 100%) doar în 6 ( $\pm 6$ ) minute ( $p < 0,05$ ) (vezi fig. 7/10).

Verapamilul, comparativ cu nifedipina are un efect mai accentuat de reducere până la anulare, a contracției la histamină, ce se realizează și într-un interval de timp mai scurt.

#### 7.2.3.5. Acțiunea nifedipinei de prevenire a contracției la acetilcolină

a) După determinarea relației doză-efect la acetilcolină s-au ales trei concentrații ( $1,6 \cdot 10^{-7}$  M;  $3,2 \cdot 10^{-7}$  M;  $6,4 \cdot 10^{-7}$  M) care dau contracții, în medie, între 25 și 80%, cu repetarea acestor contracții înainte și după incubarea timp de 10 minute, cu o singură concentrație de nifedipină ( $10^{-4}$  M) (cea mai mare concentrație utilizată în aceste experimente).

La concentrația de acetilcolină de  $1,6 \cdot 10^{-7}$  M ce reprezintă contracție de 27,37% ( $\pm 2,09$ ) nifedipina previne complet contracția ( $p < 0,025$ ). La concentrația de acetilcolină de  $3,2 \cdot 10^{-7}$  M nifedipina reduce contracția cu 24,99% ( $\pm 3,44$ ) (de la  $57,555 \pm 4,58$  la  $32,55\% \pm 4,3$ ) ( $p < 0,0125$ ). La concentrația de  $6,4 \cdot 10^{-7}$  M, cu 26,18% ( $\pm 4,58$ ) (de la 100% la  $73,82\% \pm 4,58$ ) ( $p < 0,0025$ ) (vezi fig. 7/11).

Deci, efectul de prevenire a contracției induse de acetilcolină în cadrul relației doză-efect, este redus, aspect ce este în concordanță cu date din literatură care relevă că efectul relaxant al nifedipinei este mai accentuat în caz de precontractie la diverși agenți bronhoconstrictori, decât de prevenire a ei.

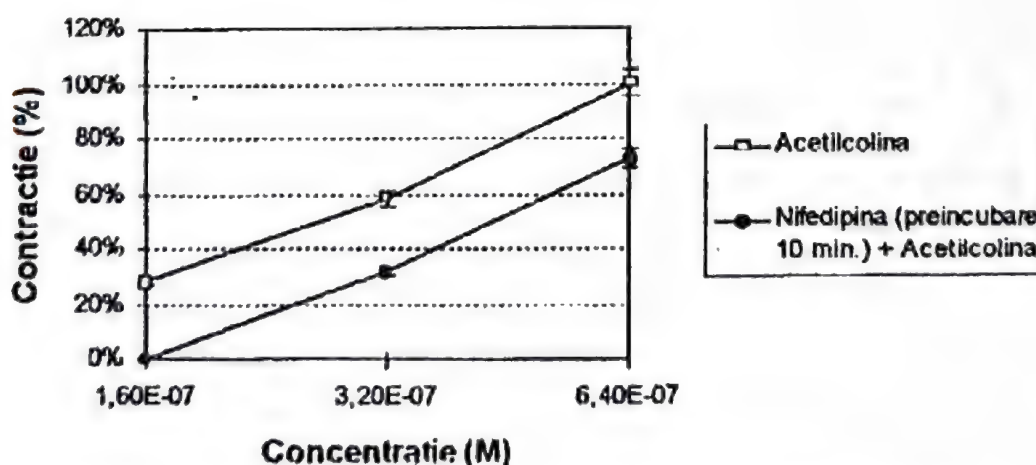


Fig. 7.11 – Acțiunea nifedipinei de prevenire a contracției la acetilcolină

b) Un alt tip de experiment a constatat în utilizarea unei concentrații constante de acetilcolină ( $2 \cdot 10^{-7}$  M) și urmărirea efectului contractil (reprezentând 100%) până atinge nivelul maxim (aceasta se realizează în aproximativ 7 minute). Apoi, repetarea contracției la aceeași concentrație de acetilcolină, după incubarea prealabilă cu o concentrație crescândă de nifedipină.

Concentrația de nifedipină de  $10^{-5}$  M scade contracția la acetilcolină doar cu 2,48% ( $\pm 1,99$ ) (de la 100% la  $97,5\%$ ) ( $\pm 1,98$ ) ( $p < 0,01$ ); concentrația de  $5 \cdot 10^{-5}$  M cu 7,84% ( $\pm 2,8$ ) (de la 100% la  $92,155 \pm 2,76$ ) ( $p < 0,01$ ), iar concentrația de  $10^{-4}$  M, cu 17,23% ( $\pm 3,44$ ) (de la 100% la  $82,63\% \pm 3,64$ ) ( $p < 0,005$ ) (vezi fig. 7/12).

Nifedipina deci reduce în mare parte contracția la acetilcolină, dar efectul de prevenire a contracției este foarte redus.

#### 7.2.3.6. Acțiunea nifedipinei de prevenire a contracției la histamină

a) S-a determinat relația doză-efect la histamină, între concentrațiile de  $4 \cdot 10^{-6}$  M și  $5 \cdot 10^{-4}$  M. Apoi s-a repetat curba doză-efect cu aceleași concentrații de histamină, după incubare prealabilă, de fiecare dată, cu nifedipină,  $10^{-4}$  M, timp de 10 minute.

Se constată că nifedipina, deși semnificativ ( $p$  între:  $p < 0,05$  –  $p < 0,001$ ) previne în mică măsură contracția la histamină (vezi fig. 7/13).

b) Ca și în cazul acetilcolinei, s-a utilizat și varianta cu o concentrație constantă de histamină ( $10^{-4}$  M) și urmărirea efectului contractil până atinge nivelul maxim (acesta se realizează în aproximativ șapte minute). Apoi se repetă contracția la aceeași concentrație de histamină după incubarea prealabilă cu concentrații crescânde de nifedipină (aceleasi folosite în toate experimentele).

La concentrația de nifedipină de  $10^{-5}$  M se

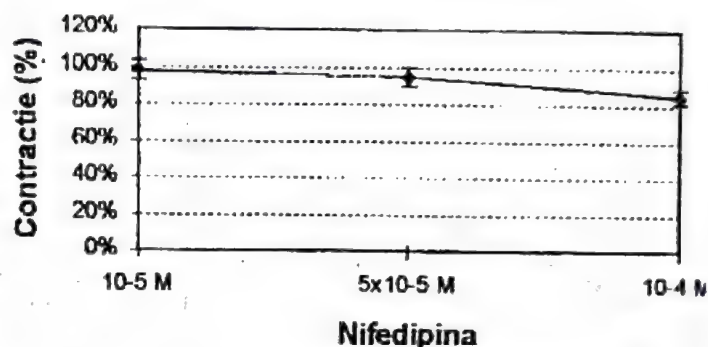


Fig. 7.12 – Acțiunea nifedipinei de prevenire a contracției induse de acetilcolină ( $2 \times 10^{-7}$  M)

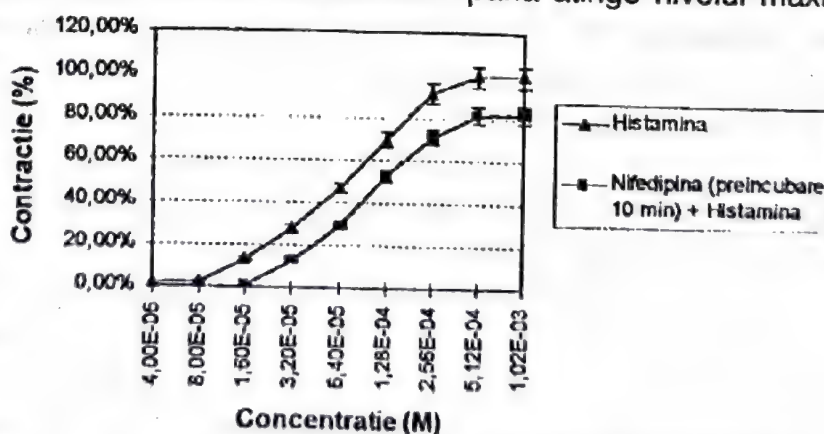


Fig. 7.13 – Acțiunea nifedipinei de prevenire a contracției la histamină



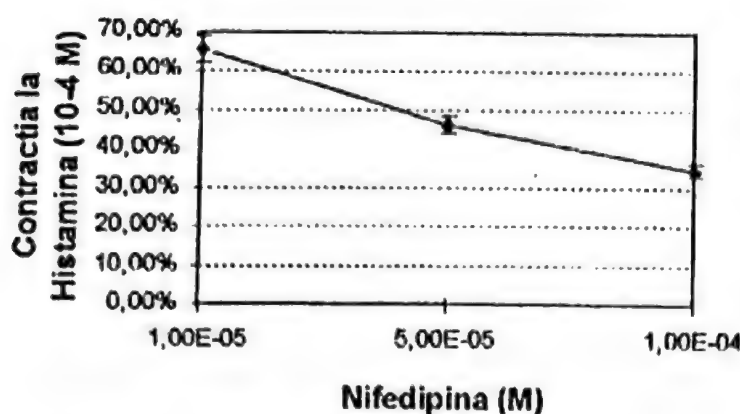


Fig. 7.14 – Acțiunea nifedipinei de prevenire a contracției induse de histamină

reduce contracția la histamină cu 34,4% ( $\pm 4,67$ ) ( $p < 0,0025$ ); la concentrația  $5 \cdot 10^{-5}$  M cu 53,8% ( $\pm 4,2$ ) ( $p < 0,001$ ); la concentrația de  $10^{-4}$  M cu 65,7% ( $\pm 6,41$ ) ( $p < 0,0025$ ) (vezi fig. 7/14)

#### 7.2.3.7. Acțiunea verapamilului de prevenire a contracției la histamină

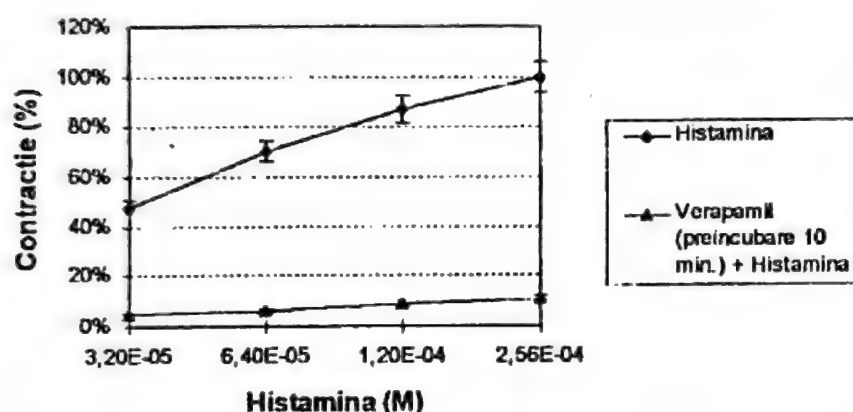


Fig. 7.15 – Acțiunea verapamilului de prevenire a contracției la histamină

S-a determinat relația doză-efect la histamină, la concentrații între  $3,2 \cdot 10^{-5}$  M și  $2,5 \cdot 10^{-4}$  M. Apoi s-au repetat aceleași concentrații de histamină după incubare prealabilă, de fiecare dată, cu verapamil  $10^{-4}$  M (aceeași concentrație ca și în cazul utilizării nifedipinei).

La concentrația de histamină de  $3,2 \cdot 10^{-5}$  M, contracția, care reprezintă 48% ( $\pm 6$ ) față de contracția cea mai mare (la  $2,56 \cdot 10^{-4}$  M histamină), este redusă de verapamil la 5% ( $\pm 1$ ) ( $p < 0,05$ ); la concentrația de  $6,4 \cdot 10^{-5}$  M reducerea este de la 70% ( $\pm 6$ ) la 6% ( $\pm 1$ ) ( $p < 0,01$ ); la concentrația de  $1,28 \cdot 10^{-4}$  M, de la 87% ( $\pm 2$ ) la 9% ( $\pm 2$ ) ( $p < 0,001$ ); la concentrația cea mai mare de histamină, de  $2,56 \cdot 10^{-4}$  M, de 100%, contracția este redusă la 11% ( $\pm 1$ ) ( $p < 0,001$ ) (vezi fig. 7/15).

Se constată că verapamilul, comparativ cu nifedipina, în aceeași concentrație, are un efect net de prevenire a contracției induse de histamină, chiar la concentrații mai mari ale acesteia. În plus, din observațiile noastre, se evidențiază faptul că, în cazul curbelor doză-efect la histamină și preincubare cu nifedipină sau verapamil, există diferențe între aceste două blocante ale canalelor de calciu, după utilizarea lor repetată, privind răspunsul contractil la histamină.

În cazul nifedipinei, după spălări repetate, preparatul răspunde din nou la histamină cu o contracție între 80 și 100%, în timp ce, în cazul verapamilului, răspunsul la histamină este foarte mult redus (vezi fig. 7/16).

Aceste diferențe confirmă datele din literatură că verapamilul, nu și nifedipina, prezintă „dependență de folosire”, ca reflectare a situsurilor de legare diferite în canalele lente de calciu și a stării ionizate a verapamilului (RAEBURN D., 1985; NAYLER W. G., 1988; PETROIU A., 1994 b).

În rezumat, se poate concluziona că:

– Nifedipina reduce contracția la acetilcolină sau histamină a musculaturii netede traheale de cobai, în funcție de concentrație. Efectul se instalează lent, anularea contracției realizându-se în 20–30 de minute doar la concentrații mari de nifedipină.

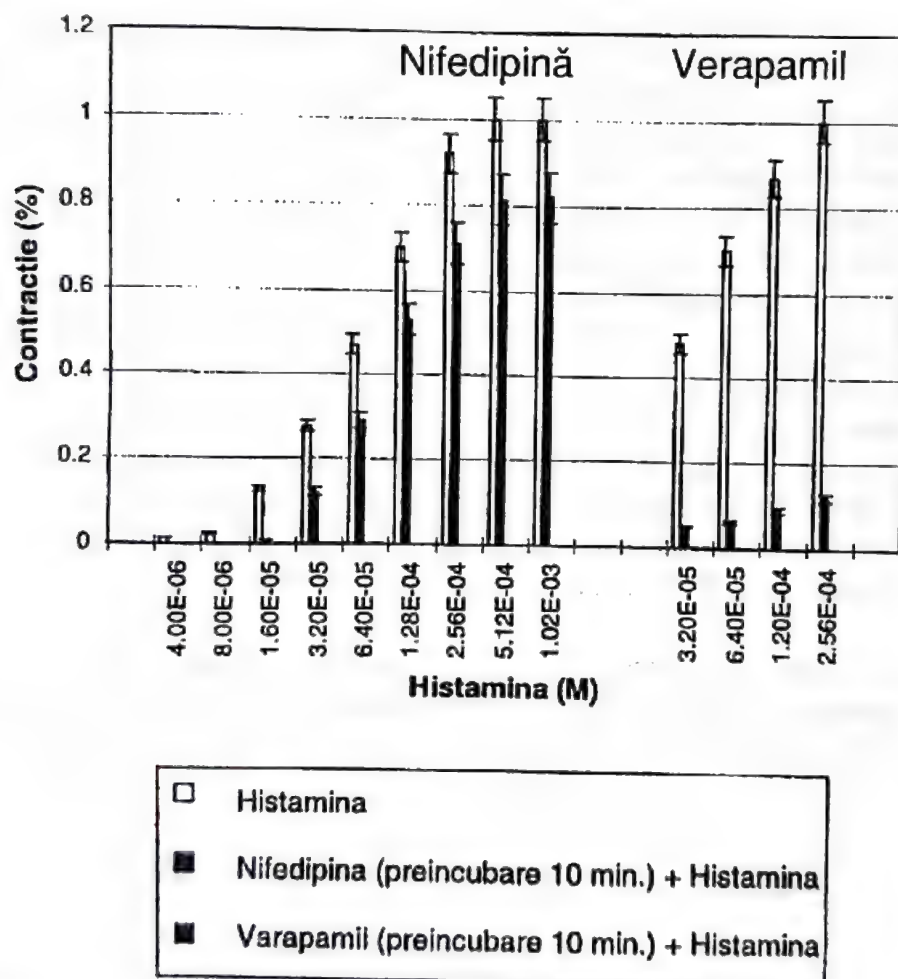


Fig. 7.16 – Efectul comparativ al nifedipinei și verapamilului de prevenire a contracției la histamină



– Verapamilul are același efect asupra contracției la acetilcolină sau histamină, dar anularea contracției se realizează la concentrații mai mici și într-un timp mai scurt.

– Incubarea cu nifedipină previne doar în mică măsură contracția la acetilcolină sau histamină. Deci nifedipina are efect mai exprimat de reducere a contracției decât de prevenire a ei.

– Efectul de prevenire a contracției la acetilcolină sau histamină de către verapamil este mult mai exprimat decât cel al nifedipinei.

– Nifedipina anulează rapid contracția indusă de  $\text{Cl}_2\text{Ba}$  sau CLK, în concentrații mult mai mici ( $2 \times 10^{-6} \text{ M}$ ) decât cele necesare ( $10^{-4} \text{ M}$ ) pentru anularea contracției induse de acetilcolină sau histamină.

– Răspunsul contractil la utilizarea repetată de agenți constrictori ca acetilcolina și histamina și utilizarea ca blocante ale canalelor de calciu a nifedipinei sau verapamilului poate permite aprecierea că nifedipina nu prezintă „dependență de folosire”, în timp ce verapamilul prezintă această „dependență de folosire”.

Rezultatele noastre sunt în concordanță cu studii care au demonstrat că nifedipina și verapamilul au un efect mai pronunțat în suprimarea contracției musculaturii netede a căilor aerifere decât în prevenirea ei. În același sens pledează și datele care evidențiază că BCCa sunt mai active ca inhibitori ai contracției induse de CLK decât a celei induse de acetilcolină, carbacol, histamină,  $\text{LTD}_4$  (FANTA H. C., 1985; TOWNLEI R. G., 1988; CUTHBERT N. J., 1994; BAERSCH G., 1995; VANNIER C., 1995).

Substanțele cunoscute ca blocante ale canalelor de calciu sunt heterogene, atât ca structură chimică, proprietăți, mod și loc de acțiune, cât și ca efecte asupra contractilității mușchiului neted și cardiac, efecte ce sunt diverse, complexe și controversate. Până în prezent nu există o clasificare a acestor compuși unanim acceptată. Cea mai simplă clasificare împarte antagoniștii calciului în anorganici și organici.

Unii cationi anorganici ca manganul, cobaltul, lantanul, pot funcționa ca antagoniști generali ai  $\text{Ca}^{2+}$  și pot bloca o largă varietate de procese calciu dependente. Acțiunea este neselectivă și rezultă probabil din capacitatea cationilor de a substitui ionii de  $\text{Ca}^{2+}$  într-o varietate de situsuri calciu-receptoare. Este posibil ca ei să blocheze funcționarea tuturor canalelor de calciu sau să intre propriu-zis în celulă, unde substituie  $\text{Ca}^{2+}$  la nivelul receptorilor calcici intracelulari.

Prezintă însă importanță mai mare blocanții organici ai canalelor de calciu (BCCa).

Până în prezent au fost propuse mai multe clasificări ale acestora, folosindu-se diferite criterii ca:

- a) specificitatea pentru inhibiția influxului de  $\text{Ca}^{2+}$ ;
- b) natura chimică, incluzând structura de bază și lipofilia;



c) selectivitatea tisulară;

d) sensibilitatea la salicilat;

e) specificitatea de legare la receptor (BURKE E., 1988; RAEBURN D., 1985; PETROIU A., 1994 b).

a) După specificitatea pentru inhibiția influxului de  $\text{Ca}^{2+}$ , Fleckenstein (citad de BURKE E., 1988; DUPUIS B. A., 1988) subîmparte inițial antagoniștii organici ai calciului în grupele A și B, la care ulterior, a adăugat și grupa C (vezi **tabelul nr. 1**).

**Tabelul nr. 1**

Grupa A:	include antagoniști ai calciului ce inhibă influxul lent de $\text{Ca}^{2+}$ în proporție de 90–100%, fără vreo schimbare în curentul de $\text{Na}^+$ , ca verapamil, diltiazem, nifedipină, nisoldipină, niludipină, nimodipină, felodipină, anipamil, desmetoxiverapamil, galopamil, nicardipină
Grupa B:	cuprinde substanțe ce inhibă influxul lent de $\text{Ca}^{2+}$ în proporție de 50–70%, fără vreo modificare în conductanța $\text{Na}^+$ , de exemplu bepridil, tiapamil, cinarizină, caroverină, proadifen, terodilin, fendilin, prenilamin
Grupa C:	include substanțe ce determină o oarecare inhibiție a influxului lent de $\text{Ca}^{2+}$ , dar nu ca proprietate majoră, ca de exemplu diazepam, fenitoin, fenoxibenzamină; loperamidă și fluperamidă (doi inhibitori ai opiaceelor), papaverină și cromoglicat (inhibitori ai fosfodiesterazei), indometacin, propranolol (antagonist al $\beta$ -adrenoreceptorilor)

b) După structura chimică, antagoniștii calciului se clasifică în patru grupe (prototipul subgrupe este subliniat) (BURKE E., 1988; SPEDDING M., 1984, 1985) (vezi **tabelul nr. 2**).

Și această clasificare nu ține seama de selectivitatea tisulară și de organ.

**Tabelul nr. 2**

Fenilalchilamine	Anipamil, desmetoxiverapamil, galopamil, ronipamil, terodilin, tiapamil, <b>verapamil</b>
Dihidropiridine	amlodipin, azodipin, dazodipin, felodipin, flordipin, iodipin, isradipin, nicardipin, <b>nifedipin</b> , niludipin, nimodipin, nisoldipin, nitrendipin
Benzotiazepine	<b>diltiazem</b> , fostedil
Difenilalchilamine	<b>cinarizin</b> , flunarizin, fendilin, prenilamin



Spedding (1984, 1985) a propus o altă clasificare chimică bazată pe diferența de lipofilie, exprimată prin  $R_1$  ( $R_1$  reprezintă o măsură a lipofiliei – cu cât numărul este mai mare, cu atât lipofilia este mai mare (vezi **tabelul nr. 3**).

**Tabelul nr. 3**

Clasa I	$R_1 = 0,45 - 0,58$ , cuprinde toate dihidropiridinele, de exemplu nifedipina, nimodipina, dazodipina, nitrendipina, nisoldipina
Clasa II	$R_1 = 0,32 - 0,33$ , de exemplu verapamil, diltiazem (substanțe cu structură chimică diferită, dar cu profil farmacologic similar)
Clasa III	$R_1 = 0,12 - 0,25$ , cuprinde difenoxialchilaminale, de exemplu fendilina, lidoflazina, perhexilina, cinarizina, prenilamina, flunarizina

c) Selectivitatea tisulară. Una din proprietățile antagoniștilor calciului este selectivitatea tisulară. De exemplu, dihidropiridinele acționează preferențial asupra musculaturii netede vasculare, fenilalchilaminele (verapamil, galopamil, anipamil) și benzotiazepinele (diltiazemul) au o acțiune aproximativ egală asupra miocardului, conductibilității atrio-ventriculare și vasculare (NAYLER W. G., 1988). Nisoldipina, cu efect de durată, acționează preferențial asupra vaselor coronare, iar nimodipina, asupra vaselor cerebrale; musculatura netedă de la nivelul arterelor este mai sensibilă decât cea de la nivelul venelor (BRAUNWALD E., 1982); fibrele musculare scheletice, fibrele musculare netede traheo-bronșice și neuronii sunt relativ insensibile.

Diferențierea în selectivitatea tisulară se poate datora în diferențele privind sursa de  $Ca^{2+}$ , ce mediază cuplarea excitație-contrație, modalitatea prin care agonistul provoacă influxul de  $Ca^{2+}$ , profilul chimic al antagonistului, în particular hidrofilia și lipofilia, gradul ionizării (de exemplu verapamilul, nu și nimodipina, este parțial ionizat, în timp ce nimodipina, nu și verapamilul, este înalt liposolubilă); diferența în densitatea, starea, distribuția și tipul canalelor de calciu voltaj dependente și cele receptor-operante, potențialul transmembranar de repaus (TOWNLEI R. G., 1988; NAYLER W. G., 1988; PETROIU A., 1991; SCHNEIDER F., 1991).

Comparativ cu musculatura netedă vasculară, și musculatura traheo-bronșică este relativ insensibilă la antagoniștii  $Ca^{2+}$ , ce se poate explica prin dependența contracției, în principal, de surse extracelulare de  $Ca^{2+}$ , de raportul între canalele calcice dependente de voltaj și cele receptor operante, în favoarea acestora din urmă, de eliberarea  $Ca^{2+}$  din depozitele interne adeseori pe calea 1, 4, 5-trifosfatului de inozitol (canalele receptor operante și eliberarea  $Ca^{2+}$  din depozitele interne sunt relativ insensibile la antagoniștii calciului).

Ca o regulă generală, sensibilitatea oricărui mușchi la antagoniști ai calciului va fi invers proporțională cu cantitatea de  $Ca^{2+}$  ce intră printr-o altă cale decât canalele

voltaj-dependente de tip L, cum ar fi canalele receptor operante, difuziunea pasivă și schimbul cu  $\text{Na}^+$ .

d) Sensibilitatea la salicilat. Folosind salicilat pentru schimbarea potențialului transmembranar, SPEDDING (1984, 1985) constată că acesta potențează efectul inhibitor al difenilalchilaminelor (cinarizină, flunarizină), îl reduce pe cel al verapamilului și diltiazemului și nu-l modifică pe cel al dihidropiridinelor. Acest criteriu poate fi folosit pentru o subclasificare, asemănătoare cu cea bazată pe lipofilie.

e) Specificitatea legării la receptor. Diferitele clase de antagoniști ai calciului acționează în locuri specifice din canal pentru legarea lor. Există mai multe situsuri de legare a antagoniștilor calciului, ce sunt proteine, care pot fi constituite din mai multe subunități și care par a fi asociate cu fosfolipide membranare.

Dihidropiridinele acționează la nivelul porțiunii externe a canalului, în timp ce verapamilul, galopamilul, acționează pe un situs situat în canal către interiorul membranei celulare. Acești din urmă compuși trebuie să străbată membrana celulară înainte de a acționa (RAEBURN D., 1985; TOWNLEI R. G., 1988; NAYLER W. G., 1988).

Accesul în lumenul canalului este favorizat și de starea de ionizare a antagonistului și doar când canalul este deschis (NAYLER W. G., 1988).

Pe baza structurii canalelor calcice voltaj dependente, s-a putut stabili că responsabilă de situsurile receptoare pentru marile familii de antagoniști calcici este subunitatea transmembranară  $\alpha_1$  (FOSSET M., 1983).

Situsurile de fixare a dihidropiridinelor se situează la nivelul segmentelor  $\text{SS}_1$  –  $\text{SS}_2$  și  $\text{S}_6$  a domeniului IV (TANG S., 1993).

Pentru verapamil, situsul de fixare este localizat la nivelul părții carboxilice ce continuă segmentul  $\text{S}_6$  (CATTERALL W. A., 1993).

În fixarea diltiazemului intervin acizi aminați aparținând segmentului  $\text{SS}_1$  al domeniului IV.

Legarea unui antagonist pentru calciu de locul său specific poate influența legarea altei clase de antagoniști.

În funcție de interacțiunea antagoniștilor calciului cu locurile specifice de legare a lor, folosind proprietățile de legare a dihidropiridinelor ca un standard primar, Glossman (citată de BURKE E., 1988) a diferențiat trei clase:

- **Clasa I** – dihidropiridinele
- **Clasa II** – fenilalchilaminele, incluzând verapamilul, anipamilul, antagoniști ai calciului ce interacționează cu situsurile de legare pentru dihidropiridine și le reduce capacitatea de legare a lor – reglare alosterică heterotipică negativă.
- **Clasa III** – în care sunt incluși compuși ca diltiazemul, benciclanul, ce cresc capacitatea de legare a dihidropiridinelor – reglare alosterică heterotipică pozitivă.



Un alt criteriu al diferențierii blocantelor canalelor de calciu este cel al „dependenței de folosire” (SPEDDING M., 1984, 1985; SCHNEIDER F., 1991; PETROIU A., 1994 b) deosebindu-se:

a) Antagoniști ce prezintă dependență de folosire: la o stimulare repetată, ca în cazul determinării curbelor doză-efect pentru unele substanțe constrictoare, la un țesut *in vitro*, un antagonist al calciului care prezintă dependență de folosire, va induce un grad din ce în ce mai mare de inhibiție, până ce își atinge efectul său maxim. Deci, canalul de calciu trebuie să fie activat (deschis) de către un agonist pentru ca antagonistul să acționeze. În această manieră acționează diltiazemul și verapamilul.

RAEBURN și colab. (1985) au demonstrat o dependență de folosire pentru verapamil și la mușchiul neted al căilor aerifere. Verapamilul a avut un efect mai slab asupra țesutului contractat cu o concentrație maximă de bronhoconstrictor față de aceeași concentrație de agent aplicată prin adăugare secvențială a concentrațiilor mai mici.

b) Antagoniști ce nu prezintă dependență de folosire, efectul fiind independent de „starea” canalului de calciu. Din acest grup fac parte dihidropiridinele.

Aceste aspecte pot fi asociate cu acțiunea diferitelor clase de antagoniști ai calciului în locuri diferite din canal și de starea de ionizare a acestora. Au fost propuse și alte clasificări, dar care sunt incomplete, adăugând puțin la clasificările existente anterior.

Au fost studiate numeroase blocante organice ale canalelor de calciu asupra musculaturii netede traheo-bronșice în condiții experimentale, cât și în profilaxia și tratamentul astmului bronșic, cum ar fi: nifedipina, nicardipina, nitrendipina, nisoldipina – din clasa dihidropiridinelor; verapamilul, prototipul fenilalchilaminelor; diltiazemul, din clasa benzotiazepine; sau cinarizina, prenilamina – din clasa difenilalchilamine. În unele studii au fost folosiți și blocanți anorganici ca  $MgSO_4$  sau cadmiu.

Blocantele canalelor de calciu (BCCa) acționează, în principal, asupra canalelor de calciu voltaj dependente (canalele L fiind mult mai sensibile decât T) și decuplează electromecanic mușchiul (RAEBURN D., 1985; PETROIU A., 1993; TOWNLEI R. G., 1988; NAYLER N. G., 1988).

Pentru blocarea canalelor receptor-operante, concentrația BCCa este mare și nu poate să fie atinsă în uzul clinic.

Efectele diferă *in vitro* și *in vivo*.

Comparativ cu musculatura netedă vasculară, musculatura traheo-bronșică este mai puțin sensibilă la BCCa, ce se poate explica prin raportul între canalele de calciu dependente de voltaj și cele operate de receptori, în favoarea acestora din urmă, ca și eliberarea  $Ca^{2+}$  din depozitele interne prin inozitoltrifosfat ( $IP_3$ ). În

ge  
tit:ve  
prinif  
de  
tor  
Ca

mu

his  
CHrea  
de  
deanti  
con  
hidr  
(TE $Ca^{2+}$   
veraîn co  
 $Ca^{2+}$   
în me  
Eantag  
nefizi  
agoni

general, sensibilitatea oricărui mușchi la BCCa va fi invers proporțională cu cantitatea de  $\text{Ca}^{2+}$  ce intră printr-o altă cale decât canalele voltaj dependente de tip L.

HIMORI și colab. (1980), studiind efectele antagoniștilor de calciu, nifedipină și verapamil, asupra musculaturii traheale și vasculare la câini, au găsit că aceștia produc vasodilatație traheală și dilatație traheală.

Dar, pe când izoprenalina are efecte similare asupra ambelor țesuturi, nifedipina și verapamilul sunt mai puțin eficiente în producerea dilatației traheale decât a vasodilatației traheale. Aceste rezultate sugerează că pentru menținerea tonusului, mușchiul neted vascular utilizează mai mult influxul transmembranar de  $\text{Ca}^{2+}$  decât mușchiul neted traheal.

Diverse studii *in vitro* au demonstrat că nifedipina și verapamilul relaxează mușchiul neted traheal de cobai, șobolan, câine și trahee umană.

Efectul inhibitor a fost evidențiat pentru contracția cu  $\text{K}^+$ , acetilcolină, carbacol, histamină, serotonină,  $\text{PGF}_2$ ,  $\text{LTD}_4$  (FANTA M. C., 1985; TOWNLEI R. G., 1988; CHANG K. C., 1993).

Nifedipina și verapamilul au fost mult mai eficiente în blocarea contracției traheei realizată de KCl, decât contracția indusă de  $\text{LTD}_4$ , în timp ce  $\text{TMB}_8$ , un antagonist de calciu presupus a acționa intracelular, a antagonizat complet contracția indusă de  $\text{LTD}_4$  (TOWNLEI R. G., 1988).

Într-un studiu raportat de CERRINA (1983) sunt prezentate efectele a patru antagoniști diferiți ai calciului: verapamil, diltiazem, bepridil și nicardipină, asupra contracției traheei izolate de cobai indusă de acetilcolină (Ach) histamină, 5-hidroxitriptamină (5-HT),  $\text{LTD}_4$  și agenți nefiziologici –  $\text{Cl}_2\text{Ba}$ , ClK, tetraetilamoniu (TEA) și  $\text{Cl}_2\text{Ca}$ .

Eficacitatea agoniștilor în producerea contracției a fost:

$$\text{LTD}_4 > \text{Ach} > 5\text{-HT} > \text{Hist} > \text{Cl}_2\text{Ba} > \text{TEA} > \text{ClK}$$

Eficacitatea agoniștilor fiziologici a fost numai moderat diminuată în soluție fără  $\text{Ca}^{2+}$ , în timp ce răspunsul la agoniști nespecfici a scăzut mult. Diltiazemul și verapamilul au redus tonusul bazal la concentrații mai mari decât  $10^{-4}$  M.

Antagoniștii studiați au avut un efect important asupra agoniștilor nefiziologici în comparație cu cei fiziologici. Contracțiile la Ach au fost rezistente la depleția de  $\text{Ca}^{2+}$  chiar și în prezență de EDTA, sugerând un rol predominant al  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular în mecanismul contractil.

Există mari diferențe, activitatea BCCa depinzând de agentul contractil și de antagonistul de  $\text{Ca}^{2+}$  testat. La concentrații scăzute au inhibat selectiv agoniștii nefiziologici (TEA,  $\text{Cl}_2\text{Ba}$ , ClK), iar la concentrații mai mari de  $10^{-5}$  M au inhibat și agoniștii fiziologici. O astfel de inhibiție selectivă nu a fost găsită la teofilină. Aceste



rezultate sugerează că antagoniștii  $\text{Ca}^{2+}$  acționează pe căi diferite când se modifică concentrația lor. La concentrații scăzute ei pot acționa selectiv asupra intrării transmembranare de  $\text{Ca}^{2+}$ , dar dacă concentrațiile lor cresc pot deprima și mișcarea intracelulară a  $\text{Ca}^{2+}$ .

Contrația mușchiului neted traheal de câine la doze scăzute de Ach este inhibată de verapamil și sugerează că aceste contracții sunt produse primar de influxul transmembranar de  $\text{Ca}^{2+}$ . În contrast, contracțiile produse prin concentrații crescute de Ach sunt complet rezistente la antagoniști ai calciului (COBURN, FARLEY, citați de HIMORI, 1980).

De asemenea, studiul lui CHANG și colab. (1993) arată că verapamilul și preparatul GS283 în concentrații mari abolesc complet contracția fazică indusă de carbacol, pe trahee izolată de cobai în mediu lipsit de calciu, sugerând că aceste preparate ar putea intra în citoplasmă, unde să exercite acțiuni secundare asupra depozitelor intra-celulare.

Într-un studiu comparativ *in vitro*, pe trahee de cobai, depolarizată de  $\text{K}^+$  crescut în mediu și contractată de  $\text{Ca}^{2+}$ , utilizând verapamil, cinarizină, trifluoperazină, acestea antagonizează contracția de tip doză-efect, cu deplasarea curbei la dreapta și în jos, ordinea eficienței fiind:

verapamil > cinarizină > trifluoperazină

Dar dacă traheea este denudată, efectele arată că acțiunea verapamilului se limitează la membrana celulară, în timp ce cinarizina și trifluoperazina acționează atât pe membrana celulară, cât și asupra mecanismului contractil intracelular (CORTIGO J., 1990).

Un alt studiu (BEAN-HARARI, 1992) urmărește efectele comparative ale nicardipinei, diltiazemului și verapamilului asupra contracției induse de carbacol și ClK, pe trahee izolată de cobai. Eficiența în abolirea sau reducerea parțială a contracției, în funcție de concentrație, este:

nicardipină > verapamil > diltiazem

Un alt blocant al canalelor de calciu folosit este nisoldipina.

În culturi de celule bronșice de șobolan și traheo-bronșice umane (musculatură netedă), prin tehnica de *patch-clamp*, s-au identificat și caracterizat canale de calciu voltaj-dependente. Datele rezultate sugerează că activarea canalelor de calciu voltaj-dependente poate influența contractilitatea căilor aerifere și că dihidropiridinele (nisoldipina) ar putea fi modulatori eficienți ai creșterii tonusului bronșic indus prin depolarizare. Se concluzionează că atât celulele de șobolan, cât și cele umane au canale de calciu voltaj-dependente de mare conductanță ce

interacționează de manieră predictibilă cu dihidropiridinele și sunt similare cu canalele de calciu din alte celule musculare netede (WARLEY J. F., 1990).

Pe bronhiile de șobolan, s-a investigat rolul canalelor de calciu voltaj dependente în contracția indusă de carbacol. Depolarizarea membranei și administrarea de BAY K 3644, un deschizător al canalelor de calciu, determină creșterea semnificativă a efectului contractil. Nisoldipina inhibă semnificativ contracția, iar abolirea ei completă o realizează cadmiul, un blocant anorganic al canalelor de calciu. Rezultatele arată că în contracția colinergică intervin canalele de calciu voltaj-dependente.

Cercetările ulterioare au stabilit că mecanismul prin care agenții colinergici deschid aceste canale în musculatura netedă bronșică se realizează prin deplasarea curbei de activare în direcția hiperpolarizării membranei (KAMISHIMA I., 1992).

Un alt blocant anorganic cercetat a fost  $\text{MgSO}_4$ , frecvent folosit în clinică, dar fără să se cunoască mecanismul de acțiune. Pentru a investiga efectele sale, s-au comparat rezultatele pe mușchiul traheal și bronșic de porc, prin contracție cu carbacol sau ClK și măsurarea efectelor  $\text{MgSO}_4$  asupra concentrației intracelulare a  $\text{Ca}^{2+}$ .  $\text{MgSO}_4$  preincubat în concentrații crescânde, determină o reducere dependentă de doză a curbei contractile la ClK, dar nu și la carbacol. Administrat însă pe fond contractil, are efect relaxant și pentru ClK și pentru carbacol, cu scăderea concomitentă a  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular. Acestea arată că  $\text{MgSO}_4$  relaxează direct musculatura căilor aerifere printr-un mecanism ce implică scăderea  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, probabil prin scăderea intrării de calciu prin canale voltaj dependente (KUMASAKA D., 1996).

### 7.3. Efectul relaxant al catecolaminelor

Studiul a avut drept obiectiv compararea efectelor relaxante ale catecolaminelor asupra mușchiului neted traheal contractat cu histamină, înregistrând contracția izometrică a unor spirale de trahee de cobai.

S-a urmărit:

- Efectul **adrenalinei** în doze de  $2 \cdot 10^{-7}$ ,  $4 \cdot 10^{-7}$ ,  $6 \cdot 10^{-7}$ ,  $8 \cdot 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M, pe preparatul contractat cu histamină  $8 \cdot 10^{-6}$  M.
- Efectul **noradrenalinei** în doze de  $0,5 \cdot 10^{-5}$ ,  $10^{-5}$ ,  $2 \cdot 10^{-5}$  M, pe fond de contracție cu histamină  $10^{-6}$  M, cât și pe preparatul în repaus.
- Efectul **dopaminei** în doze de  $10^{-4}$ ,  $2 \cdot 10^{-4}$ ,  $4 \cdot 10^{-4}$ ,  $8 \cdot 10^{-4}$  M, asupra mușchiului traheal de cobai contractat cu histamină.

Substanțele de cercetat au fost adăugate în baia de organ izolat, iar după fiecare doză utilizată s-a efectuat spălarea preparatului cu lichid fiziologic.



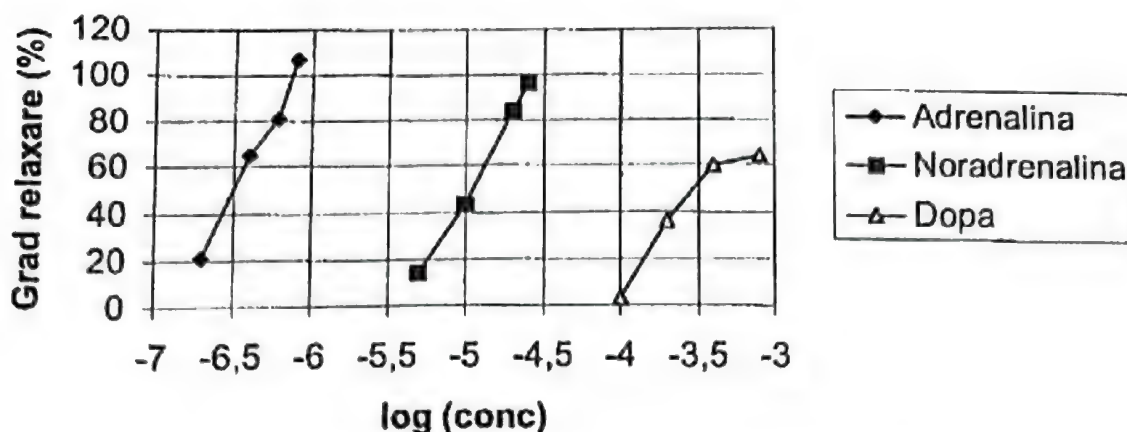


Fig. 7.17 – Efectele catecolaminelor asupra spiralei de trahee de cobal contractată cu histamină

Efectul relaxant a fost urmărit la două, trei și cinci minute.

S-a calculat gradul de relaxare (%) corelat cu logaritmul concentrației fiecărei doze administrate (vezi fig. 7/17).

- S-a realizat relaxarea fiecărui preparat dependent de doză, în intervalul de timp urmărit.

- Efectul cel mai evident a fost realizat de **adrenalina**  $10^{-7}$  M, apoi **noradrenalina**  $10^{-6}$  M și **dopamina**  $10^{-4}$  M.

- Pe mușchiul necontractat **noradrenalina** în aceleași doze nu a modificat tonusul bazal.

Plecând de la ipoteza că receptori  $\beta_1$  sunt dependenți de mediația nervilor simpatici ( **$\beta$ -receptori ai inervației**), în timp ce receptori  $\beta_2$  sunt dependenți de adrenalina circulantă ( **$\beta$ -receptori dependenți hormonal**) (BARNES P. J., 1988), constatăm că noradrenalina a realizat relaxarea de aproape 100% în concentrație de alt ordin de mărime față de adrenalină.

Studii funcționale paralele pe același țesut *in vitro* arată că relaxarea la  $\beta$ -agoniști exogeni este mediată de receptori  $\beta_2$ , în timp ce relaxarea la stimularea nervoasă simpatică este mediată de receptori  $\beta_1$ .

În mușchiul neted al căilor respiratorii umane, care nu au inervație simpatică semnificativă, nu sunt de așteptat efecte mediate de receptori  $\beta_1$ . Această ipoteză a fost confirmată de studii *in vitro*, în care relaxarea căilor respiratorii centrale și periferice a fost realizată numai de receptori  $\beta_2$ .

**Prenalterolul**, stimulent  $\beta_1$ , nu are efect bronhodilatator la subiecții astmatici, iar **izoproterenolul** care stimulează receptori  $\beta_1$  și  $\beta_2$ , nu realizează un efect bronhodilatator adițional comparativ cu agoniștii  $\beta_2$ .

## BIBLIOGRAFIE

1. DANIEL E. E., et al., *Ultrastructural studies in the neuromuscular control of human tracheal and bronchial muscle*. Respiration Physiology, 1986, 63: 109–128.
2. MIHALAŞ G., SCHNEIDER F., PETROIU A., MIHALAŞ G. I., *Computer techniques in bronchomotricity functional investigations and experimental research*, Timişoara medicală, Supplement, 1989, 34: 47–50.
3. PETROIU A., MIHALAŞ G., COSTE O., SCHNEIDER F., *Model experimental pentru studiul motricităţii musculaturii netede a căilor aerifere*. Cercetări experimentale medico-chirurgicale, Timişoara, 1994a, 1, 1: 35–38.
4. JANSSEN L. J., DANIEL E. E., *Pre- and post-junctional muscarinic receptors in canine bronchi*, Am. J. Physiol., 1990, 259 (Lung Cell. Mol. Physiol. 3): L304–L314.
5. SCHNEIDER F., PETROIU A., MIHALAŞ G., DRAGOMIR A., MĂTIEŞ R., *Acţiunea nifedipinei asupra coontracţiei induse de acetilcolină pe spirala de trahee de cobai*. Fiziologia (Physiology), 1991, 1,1: 17–20.
6. BARNES P. J., *Modulation of neurotransmission in airways*. Physiological Reviews, 1992, 72: 699–729.
7. CHUNG K. F., BARNES P. J., *Role of inflammatory mediators in asthma*. British Medical Bulletin, 1992, 48, 1: 135–148.
8. PETROIU A., MIHALAŞ G., SCHNEIDER F., *Experimental studies concerning nifedipine action of histamine induced contraction of guinea pig tracheal spiral*. Fiziologia (Physiology), 1993, 3, 1–2: 35–41.
9. RUSU V., BARAN T., BRĂNIŞTEANU D. D., *Biomembrane şi patologie*. 1998 (1), Ed. Medicală, Bucureşti.
10. SISSON J. M., *Ethanol stimulates apparent nitric oxide-dependent ciliary beat frequency in bovine airway epithelial cells*. Am. J. Physiol., 1995, 268, (Lung Cell. Mol. Physiol. 12): L596–600.
11. SISSON J. M., TUMA D. J., RENNARD S. J., *Acetaldehyde – mediated cilia dysfunction in bovine bronchial epithelial cells*. Am. J. of Physiol., 1991, 260 (2 pt. 1), L29–36.
12. SISSON J. M., TUMA D. J., *Vapor phase exposure to epithelial cell ciliary mobility*. Alcohol Clin. Exp. Res., 1994, 18 (5), 1252–1255.
13. ŞANDOR S., CHECIU M., FAZECAS-TODEA I., *Embrio- şi fetopatia alcoolică*. 1993, Ed. Academiei Române, Bucureşti.
14. FANTA M. C., *Calcium channel blockers in prophylaxis and treatment of asthma*. Am. J. Cardiol., 1985, 55, 202B–209B.



43. KUMASAKA D., LINDEMAN K. S., CLANCY J., LANDE B., CROXTON T. L., HIRSHMAN C. A., *MgSO<sub>4</sub> relaxes porcine airway smooth muscle by reducing Ca<sup>2+</sup> entry.* Am. J. Physiol., 1996, 270 (3 Pt 1) pL469–474.

44. BARNES P. J., *Adrenergic regulation of airway function.* In The Airways Neural Control in Health and Disease. vol. 33, Eds. Kaliner M. A., Barnes P. J., Marcel Dekker Inc., New York, 1988, 303: 67–82.



## 8. STUDII CLINICE PRIVIND BRONHOMOTRICITATEA

Testele de explorare funcțională pulmonară dețin un rol important în diagnosticul pacienților cu patologie respiratorie, pentru evaluarea răspunsului la terapia specifică și totodată pentru monitorizarea evoluției lor clinice. Utilitatea testelor ventilometrice este legată de stabilirea prezenței unei disfuncții ventilatorii, de diferențiere a disfuncțiilor obstructive de cele restrictive, paralel cu evaluarea severității acestora.

Obstrucția variabilă a căilor respiratorii poate fi evaluată prin câteva din următoarele teste:

**I. Spirometria** – dă o imagine foarte exactă a severității astmului și a gradului de obstrucție a căilor respiratorii.

**Volumul expirator maxim/secundă – VEMS** – este cel mai reproductibil parametru al funcției pulmonare și se corelează direct cu severitatea obstrucției. Nu sunt contraindicații pentru testare, iar metoda și interpretarea rezultatelor sunt standardizate.

Există două modalități de exprimare a debitelor ventilatorii maxime și forțate:

– **debite medii** – valoarea medie a debitelor instantanee maxime realizate pe o unitate de timp dată:  $FEF_{25-75}$ ,  $FEF_{50-75}$ ,  $FEF_{75-85}$  ce depind numai de proprietățile mecanice ale plămânului, nu și de forța musculară. Cu ajutorul acestor teste se pot decela obstrucții ușoare în care VEMS poate avea valoare normală;

– **debite instantanee maxime** – valori de debite înregistrate într-un anumit moment al mișcării ventilatorii, sau la un volum pulmonar dat: **PEF** – **debitul expirator maxim instantaneu de vârf** obținut la un volum pulmonar apropiat de CPT,  $MEF_{50\%}$  și  $MEF_{25\%}$  obținute la 50% sau 25% din C.V. Scăderea  $MEF_{50\%}$  se corelează bine cu reducerea  $FEF_{25-75}$  la bolnavii cu sindrom obstructiv distal (DUȚU ȘT., 1997).



**II. Teste de provocare bronșică** – măsoară responsivitatea căilor respiratorii la stimuli nespecfici ce declanșează bronhoconstricția:

– testul de provocare cu metacolină sau carbacol este standardizat, dar cere îndemânare tehnică și este contraindicat în unele situații;

– VEMS-ul postbronhodilatator măsoară cea mai bună funcție ce poate fi atinsă prin terapie bronhodilatatoare. Un răspuns pozitiv ajută la confirmarea diagnosticului.

**III. Monitorizarea ambulatorie** – folosind peak-flowmetre furnizează măsurători multiple ale gradului de obstrucție în ambianța naturală a pacientului, dar rezultatele PEF astfel obținute sunt mai puțin de încredere decât VEMS.

**IV. Rezistența la flux** poate fi determinată prin:

– **metoda pletismografică** – permite măsurarea volumelor pulmonare statice, a rezistenței la flux în căile aerifere  $R_{aw}$  și a derivatelor sale: conductanța căilor aerifere la flux  $G_{aw} = 1/R_{aw}$  și conductanța specifică, care exprimă debitul de aer determinat de o presiune efectivă de 1 cm apă, la un volum pulmonar de 1 litru  $sG_{aw} = G_{aw}/CRF$ .

– **metoda întreruperii fluxului de aer la gură**, ce oferă informații privind rezistența la flux a sistemului respirator.

Rezultatele testelor prezentate sunt corelate semnificativ unele cu altele, fiind studiate pe grupe mari de pacienți cu grade variate de severitate a obstrucției căilor respiratorii.

Toate aceste teste contribuie cu o anumită cantitate de informație unică la măsurarea obstrucției bronșice într-o investigație clinică (ENRIGHT P. L., 1994).

## **8. 1. Variația parametrilor ventilatori în cadrul unor teste de responsivitate bronșică**

Obstrucția variabilă a căilor respiratorii, asociată cu o hiperreactivitate bronșică secundară unei reacții inflamatorii la nivelul căilor aerifere, caracteristică astmului bronșic (COCKCROFT D. W., 1991), poate fi apreciată prin teste de provocare bronșică.

Un mare număr de agenți farmacologici sunt susceptibili de a provoca bronhoconstricție, mai des utilizați fiind histamina și agenții colinergici: acetilcolina, metacolina sau carbacolul. Diverse studii au folosit: serotonina, bradikinină, beta-adrenergic antagonist, prostaglandine  $F_{2\alpha}$ , leucotriene, AMP.

În studiile noastre, dintre testele de provocare nespecifice ale bronhoconstricției, s-au utilizat cele cu aerosoli cu acetilcolină în doze diferite, pentru a

diferența reactivitatea unui grup de subiecți astmatici, față de un lot martor format din 10 tineri sănătoși (MIHALAȘ G., 1986). Pe curba flux-volum aparatul Ohio-Omni-Lab a calculat parametrii ventilometrici dintre care au fost prelucrați statistic: VEMS, PEF, debitele medii expiratorii maxime  $DEM_{2-12}$ ,  $DEM_{25-75}$  și ventilația maximă efectuată timp de 15 secunde – Vmax.

Modificările VEMS % față de valorile ideale și ale VEMS/CVF-E, au fost găsite scăzute statistic semnificativ ( $p < 0,05$ ) față de determinarea inițială, numai la lotul de bolnavi.

PEF a fost modificat atât la subiecții normali, dar mai ales la cei cu astm bronșic ( $p < 0,001$ ), la care și ventilația maximă (Vmax) a fost modificată.

Reducerea indicilor calculați după aerosoli arată o reactivitate crescută prin modificarea rezistenței căilor aerifere la bolnavii cu astm bronșic.

Pentru a evidenția hiperreactivitatea unui grup de subiecți cu astm bronșic exogen s-au utilizat teste de inhalare cu acetilocolină, cât și determinarea parametrilor ventilatori după administrarea unui  $\beta_2$  stimulant-salbutamol. Comparând rezultatele acestui grup de bolnavi astmatici cu cele obținute la un lot martor, diferența de răspuns a fost semnificativă. La determinarea efectuată după 30 de minute după administrarea de salbutamol parametrii ventilatori au crescut față de valorile obținute după aerosolii cu acetilocolină 0,5%. Parametrii cei mai sensibili s-au dovedit a fi PEF și Vmax.

$\beta_2$  agonistii rămân bronhodilatatorii cei mai utilizați în practica medicală. Ei reversează contracția mușchiului neted la spasmogeni acționând în egală măsură asupra căilor largi sau mici, iar asupra mastocitelor previn eliberarea mediatorilor, de asemenea influențează permeabilitatea microvasculară, transmisia colinergică și eliberarea factorilor epiteliali (BARNES P. J., 1992).

Și anumiți factori fizici pot influența tonusul bronhomotor ca: efortul fizic, aerul rece, hiperventilația și aerosolii cu soluții nonizotonice.

S-a studiat reactivitatea bronhomotorie nespecifică la un grup de 60 subiecți astmatici, înregistrându-se parametrii ventilometrici înainte și după inhalarea de aerosoli cu soluție salină hipertonică prin nebulizare ultrasonică timp de un minut cu aparatul Tur Usi 3. Testarea s-a repetat după trei zile de administrare a unui blocant al canalelor de calciu, corinfar 30 mg/zi (MIHALAȘ G., 1990). În acest studiu cel mai sensibil test s-a dovedit a fi  $DEM_{2-12}$ .

Dintre agenții nespecfici ce pot declanșa bronhospasmul au mai fost studiați efortul fizic și influența frigului. În datele din literatură se evidențiază că solicitarea fizică la astmatici poate duce la creșterea rezistenței la flux a căilor respiratorii, caracteristică fiind apariția după terminarea efortului a unei respirații șuierătoare forțate, cu dispnee expiratorie. În cazurile studiate de noi procentul de apariție al bronhospasmului de efort a fost mult mai mic.



La un alt grup de 10 tineri sănătoși s-au determinat parametrii ventilatori înainte și după imersia feței în apă la 10°C, timp de 15 secunde. De asemenea s-a urmărit tensiunea arterială și frecvența cardiacă, calculată pe o derivație ECG înregistrată în timpul probei (vezi fig. 8/1). Dintre parametrii ventilatori s-au modificat debitele medii și mai ales PEF de la  $93 \pm 9\%$  la  $75 \pm 10\%$  ( $p < 0,01$ ). Probabil modificările acestor parametri s-au realizat printr-o reacție vagală evidențiată și de bradicardizare.

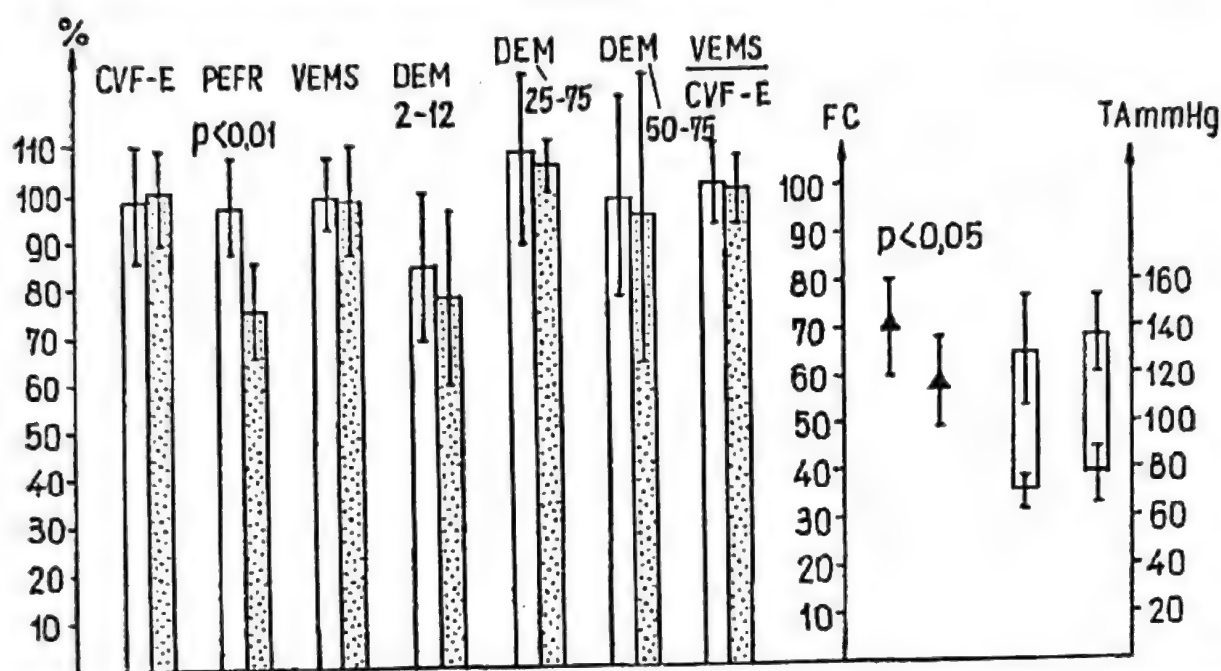


Fig. 8.1 – Variația parametrilor ventilatori, frecvenței cardiace și tensiunii arteriale, la un lot de tineri sănătoși, după imersia feței timp de 15 s, la 10°C

Metode ce utilizează aerosoli hipo- sau hiperosmolari, hiperventilația de aer rece sau uscat și efortul fizic sunt curent folosite în cercetare, dar utilizarea lor clinică este limitată (BOULET L. P., 1994).

Esențial pentru interpretarea testelor de provocare rămâne pe lângă metoda folosită, parametrii funcționali utilizați pentru evaluarea răspunsului bronșic provocat, analiza și expresia rezultatelor (STERK P. L., 1993).

Manevrele de inspir maximal precedând expirul forțat pot influența tonusul bronșic și afecta deci răspunsul. Orehek J. și col. arată că efectul bronhodilatator al inspirației forțate care precede măsurarea VEMS, poate masca bronhoconstricția provocată, subestimând astfel sensibilitatea bronșică. De aceea în unele studii s-a folosit măsurarea Raw plețismografică, care nu necesită manevră forțată și permite construirea curbei doză-răspuns pentru a aprecia sensibilitatea și reactivitatea bronșică (BADIER M., 1993).

Totuși metoda cea mai utilizată pentru măsurarea răspunsului bronșic este:

– **VEMS PC20 sau PD20** = concentrația sau doza de aerosoli responsabilă de scăderea cu 20% a VEMS-ului

– **Raw prin plețismografie** – nu necesită manevră forțată.

Prin construirea curbei doză-efect se poate aprecia:

– **sensibilitatea bronșică** = doza în micrograme de carbacol care provoacă o creștere de 100% a Raw;

– **reactivitatea bronșică** = panta curbei doza de carbacol – conductanța specifică a căilor aeriene.

Rezultatele obținute după administrarea de agonști bronhoconstrictori pot fi influențate de numeroși factori cum ar fi:

■ legați de subiect – stabilitatea astmului (infecții recente), medicația utilizată, variații circadiene ale răspunsului bronșic, tahifilaxie la histamină sau la metacolină, configurația anatomică a căilor aerifere

■ tehnica de eliberare de aerosoli și de inhalare:

- metoda stocată
- metoda utilizând un dozimetru – valorile ce exprimă sensibilitatea bronșică fiind mai scăzute față de metoda stocată (BADIER, 1993)
- debitul de nebulizare
- caracteristicile fizice ale aerosolilor

■ agonistul bronhoconstrictor utilizat:

- histamina prezintă inconvenientul efectelor secundare
- metacolina fiind hidrolizată de acetilcolinesteraza, are toleranță mai bună, metabolizarea ei făcându-se mai rapid
- carbacolul

■ metoda de măsurare a răspunsului:

- parametrul utilizat: VEMS sau Raw
- curba doză-răspuns cumulativă

## 8.2. Implicațiile blocanților canalelor de calciu în reglarea bronhomotricității

Contrația mușchiului neted al căilor respiratorii, eliberarea de mediatori celulari, secreția de mucus și activitatea reflexă colinergică vagală sunt evenimente legate de calciu. Disponibilitatea crescută de ioni de calciu pentru mecanismele de cuplare a excitației cu contrația, stimulare-secreție și conducerea impulsului nervos pot să explice contractilitatea crescută a mușchiului neted, eliberarea crescută de mediatori mastocitari și secreția exagerată de mucus.



Există numeroase argumente pentru a ne gândi că pe lângă o facilitare a bronhoconstricției produsă printr-o dereglare a sistemului nervos autonom, un rol deosebit este jucat de mușchiul neted bronșic. Ar putea fi un defect în receptorii din membrană, în influxul de calciu sau în metabolismul fosfolipidelor membranare.

Pentru că unele căi patologice ale bronhoconstricției sunt în cele din urmă corelate cu o disponibilitate de ioni de calciu, liberi, în studiile următoare am plecat de la premiza că terapia ar trebui să reducă concentrația calciului la nivelul celulelor contractile și secretorii. În acest sens am încercat să evaluăm rolul blocantelor canalelor de calciu în reglarea bronhomotricității, cunoscând că acestea inhibă influxul de calciu prin canalele lente membranare, iar la concentrații mari au fost descrise interacțiuni cu locurile de legare a  $\text{Ca}^{2+}$  de pe calmodulină împiedicând activarea kinazei lanțurilor ușoare ale miozinei.

Este de presupus că blocantele canalelor de calciu pot modifica și evenimentele celulare asociate cu bronhoconstricția alergică, deoarece sinteza și eliberarea de mediatori la fel ca și evenimentele contractile ale musculaturii netede sunt  $\text{Ca}^{2+}$  dependente.

#### **8.2.1. Efectul Nifedipinei în doză unică asupra bronhospasmului din astmul bronșic**

A fost investigat un lot de 50 bolnavi, cu diagnostic de astm bronșic internați în clinicile medicale ale Spitalului județean Timișoara. Explorările s-au efectuat în Laboratorul de fiziologie clinică.

După completarea unei fișe cu date din anamneză și foaia de observație s-a înregistrat electrocardiograma și s-a determinat tensiunea arterială. Probele funcționale respiratorii s-au efectuat cu ajutorul spirografului Ohio-Omni Lab. Acesta este dotat cu un calculator ce are în memorie formulele de calcul pentru valorile ideale și procente valorilor găsite raportate la cele ideale.

##### **Parametrii ventilometrici:**

- CVF–E – capacitatea vitală forțată expiratorie
- PEF – debitul expirator maxim de vârf
- VEMS – volumul expirator maxim/secundă
- $\text{DEM}_{2-12}$  – debitul mediu expirator maxim între 200–1200 ml
- IPB =  $\text{VEMS}/\text{CVF-E}$  – indicele de permeabilitate bronșică

S-a testat efectul nifedipinei în doză unică de 20 mg, comparativ cu al corinfarului. După 30 de minute s-a făcut o nouă determinare a parametrilor ventilatori, a tensiunii arteriale și o înregistrare ECG.

### ASTM BRONȘIC – NIFEDIPINĂ (Tabel 1)

Lotul a cuprins 25 bolnavi care au fost tratați cu nifedipină – 20 mg

Vârsta medie =  $41 \pm 15$  ani;

Sexul: masculin 64%, feminin 36%;

Vechimea bolii a fost foarte variată =  $9 \pm 10$  ani.

Simptome:

- dispneea (D) au prezentat-o 72% dintre bolnavi
- wheezing (W) a fost prezent la 44% dintre bolnavi
- raluri bronșice (R) erau prezente la 60% dintre bolnavi.

### Parametrii cardiovasculari

Tesiunea arterială maximă la prima determinare a fost de  $127 \pm 12$  mmHg și a scăzut la  $118 \pm 11$  mmHg ( $p < 0,001$ ).

Valorile tensiunii arteriale diastolice, de asemenea au scăzut de la  $83 \pm 7$  la  $79 \pm 8$  mmHg (vezi fig. 8/2).

Frecvența cardiacă a crescut de la  $77 \pm 13$  la prima înregistrare, la  $88 \pm 11$  la determinarea a doua.

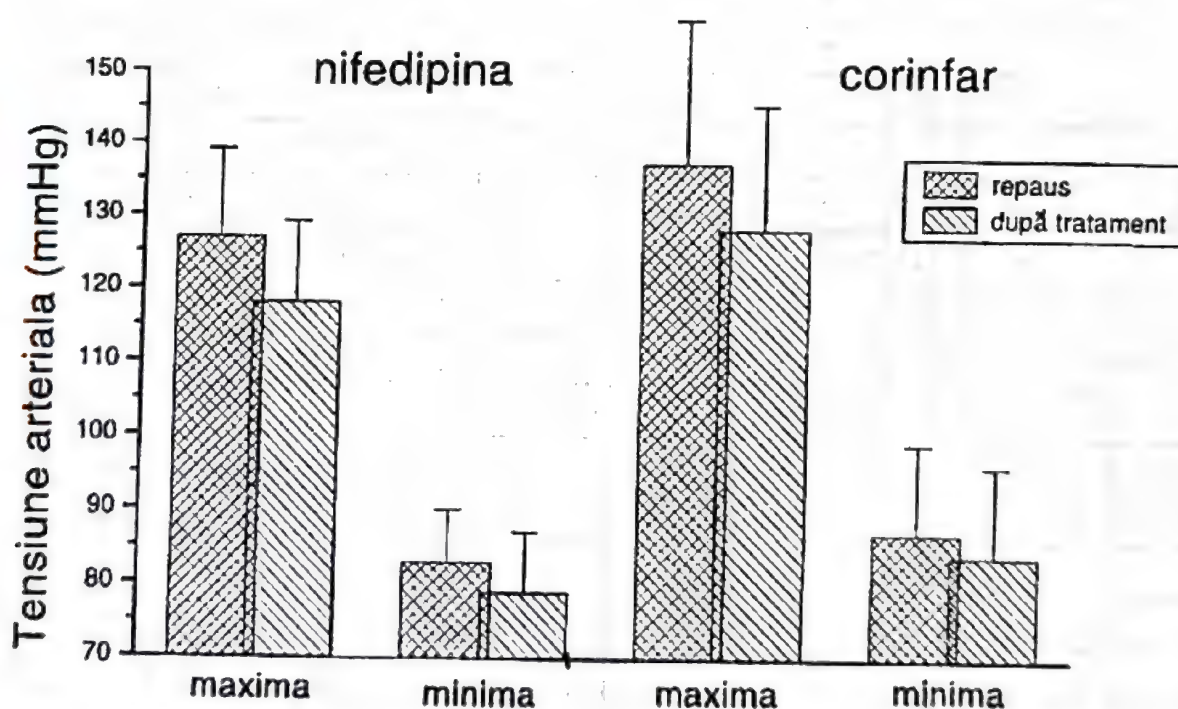


Fig. 8.2 – Valorile tensiunii arteriale înainte și după administrarea de nifedipină (20 mg) sau corinfar la bolnavii cu astm bronșic



Nr. crt	Nr. pac	Nume Virstă Sex			V B	D	W	R	TAM		TAm		VC		CV ML		CVF-E	
									1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	1	CA	30	F	14	D	N	D	120	110	80	70	70	72	3110	3200	83	85
2	5	MF	56	F	10	D	N	D	130	125	90	80	82	102	1140	1200	40	42
3	6	BI	46	M	0	N	N	N	125	120	80	80	62	82	4980	5350	101	109
4	8	JV	36	M	1	D	N	D	120	120	85	90	82	84	2910	3500	68	82
5	10	VI	27	M	0	N	N	N	130	120	80	75	56	76	7560	7470	143	141
6	12	BN	48	M	12	D	D	N	120	120	85	75	90	106	1680	1610	43	41
7	15	HG	18	M	0	N	N	N	125	115	85	75	80	84	6350	7350	103	119
8	18	JE	49	F	40	D	D	p	115	105	75	75	82	88	1240	1520	44	54
9	20	TM	32	M	0	N	N	N	125	120	90	85	80	90	4700	4700	97	97
10	22	PM	38	F	8	D	N	N	120	115	80	80	73	96	2800	3080	90	99
11	24	PV	51	M	7	D	D	D	155	135	95	85	70	80	2360	2180	57	52
12	25	MR	22	M	0	N	N	D	130	135	85	95	90	104	2370	3090	47	62
13	27	FM	20	M	14	N	N	N	115	100	75	65	54	64	4640	4640	95	95
14	29	BV	31	M	3	D	D	D	130	120	90	85	96	102	1690	1780	39	41
15	32	DT	19	M	18	N	N	N	105	105	65	65	60	80	3220	3530	64	70
16	34	PC	45	F	3	D	N	D	120	115	85	85	85	100	1030	1000	37	36
17	36	CV	49	F	8	D	D	N	155	135	95	90	70	82	1640	2000	54	66
18	39	PC	56	M	2	D	N	p	135	135	80	80	92	94	800	2060	17	43
19	41	DE	50	F	3	D	N	D	115	95	75	70	60	74	3000	3100	103	106
20	43	BD	40	M	22	D	D	D	145	125	90	85	86	84	2210	2130	46	45
21	44	SF	28	F	6	D	D	N	125	115	85	70	102	98	1260	1660	37	49
22	45	FA	59	M	10	D	D	D	125	130	80	80	68	92	2630	3260	64	79
23	47	DI	49	M	15	D	D	D	120	115	75	80	68	88	2240	2410	65	70
24	48	SM	41	F	22	D	D	D	135	120	85	85	76	84	2240	2630	79	86
25	50	BG	78	M	18	D	D	D	125	100	75	65	72	92	1680	1990	57	68
MEDIA: 41					9				127	118	83	79	77	18	2779	3058	67	73
DEV. STANDARD: 15					10				12	11	7	8	13	11	1689	1708	29	28
TESTUL T PERECHE:									P<0,001		P<0,01		P<0,001		P<0,001			

VARIABLE CALITATIVE: % sex max.: 64 %  
 simpt. dispnee: 72 %  
 simpt. weezing: 44 %  
 simpt. raluri: 60 %

Tabel nr. 1 -

14	DEP %		16	VEHS %		18	DEM 2-12 %		22	IPB %		24
	1	2		1	2		1	2		1	2	
39	48	1890	1940	54	55	36	36	66	66	2		
31	38	760	780	35	35	5	5	67	65	3		
41	82	3400	3590	80	84	37	36	68	67	3		
24	26	1110	1600	91	45	14	19	38	46	2		
77	75	3900	4010	85	88	78	76	52	54	2		
39	35	940	850	29	26	8	6	56	53	2		
68	68	4570	5200	84	96	66	76	72	71	3		
29	35	860	360	39	43	9	12	69	63	2		
55	96	3120	3720	76	90	36	99	66	79	1		
49	67	1720	2000	66	77	37	35	61	65	3		
18	22	1080	1000	31	29	11	9	46	46	2		
41	37	1650	1750	39	41	19	28	70	57	2		
60	80	3720	3620	91	88	57	85	80	78	3		
24	20	970	920	27	25	7	7	57	52	2		
33	34	1480	1580	35	37	16	19	46	45	1		
18	19	500	520	23	24	12	14	49	52	4		
72	81	1040	1220	42	49	13	18	63	61	1		
15	18	340	1300	8	31	10	12	43	63	2		
61	61	1750	1890	75	81	45	46	58	61	1		
30	26	1060	1080	26	26	9	10	48	51	2		
23	21	780	1000	26	34	7	11	62	60	2		
39	38	1280	1470	37	43	14	18	49	45	1		
28	22	1170	1270	43	47	14	17	52	53	2		
47	64	1650	1860	65	74	34	42	68	71	1		
39	40	1220	123	53	53	20	20	73	62	2		
40	46	1678	1854	48	53	25	30	59	59	2,0		
17	24	1141	1206	23	24	20	27	11	10	0,8		
P<0,05		P<0,001				P<0,05		P<0,05				

Astm bronsic – nifedipină



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13				
NR	NR	NUM	VIR-STA	SEX	V B	DWR	TAM	TAM	FR. CARD.	CAP. VIT.	CVF-E					
CRT	PAC						1	2	1	2	1	2				
1	2	GA	72	M	4	D D N	155	135	85	85	84	76	2470	2240	61	55
2	3	PC	39	F	11	N N D	155	145	110	105	65	72	3440	4050	108	127
3	4	GA	56	F	5	D D D	160	150	90	90	84	84	1760	1960	73	81
4	7	DA	51	F	6	D N N	140	130	95	95	90	104	1430	1740	53	64
5	9	VI	27	M	5	N N N	130	120	85	75	54	76	5910	6610	112	125
6	11	VA	58	F	8	D D D	110	100	65	60	88	92	1810	2160	65	77
7	13	SS	44	M	0	D N D	120	105	85	70	76	78	2990	3240	69	74
8	14	SA	65	F	10	D N D	185	165	110	95	65	68	1220	1360	49	55
9	16	DI	60	M	2	D D D	155	145	100	95	86	92	1240	1150	36	33
10	17	IA	50	M	2	D D D	165	140	95	95	105	114	3390	3430	70	71
11	19	FD	25	F	4	D N N	105	105	75	75	86	102	3000	3080	83	85
12	21	MC	35	F	10	D D D	115	115	75	75	72	84	2000	2120	68	72
13	23	MM	28	F	1	D D N	130	120	80	80	96	96	3370	3540	94	99
14	25	DM	45	F	3	D D D	135	135	95	90	70	78	2280	2480	74	80
15	28	NI	46	F	13	D D N	115	160	70	65	78	96	1340	1030	38	29
16	30	CD	53	F	2	D N N	145	125	100	95	92	98	1300	1300	49	49
17	31	CF	35	F	17	D D N	120	120	75	80	78	86	2080	2360	71	80
18	33	NI	36	F	5	D D D	135	125	85	80	86	96	3460	3860	106	119
19	34	BC	34	M	12	D N N	115	105	70	70	70	78	3780	3940	74	77
20	37	R	44	F	16	D N N	150	135	80	80	74	84	2980	3000	106	107
21	38	CD	36	F	10	D D D	160	140	105	100	100	104	1640	1600	46	45
22	40	IV	53	F	20	D D N	145	130	85	80	78	94	1220	1460	39	47
23	42	CB	34	M	4	D D D	140	135	90	90	72	82	2710	2600	56	54
24	46	MV	56	F	30	D D D	130	110	85	65	72	72	2300	2590	73	82
25	49	RM	36	F	10	D D D	120	115	80	80	82	88	3940	3840	114	111
MÉDIA		45			8		137	128	87	84	80	88	2522	2671	71	76
DEV. STAND.		12			7		20	17	12	12	12	12	1128	1251	24	27
TESTU T PERECHE							P<0,01		P>0,05		P>0,001					P<0,01

VARIABLE CALITATIVE : % : SEX MASC = 28 %  
 SIMPTON DISPNEC = 92 %  
 SIMPTON WEESING = 64 %  
 SIMPTON RALLURI = 56 %

Tabel nr. 2 -

14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	A
DEP%		ML	VEMS	%		DEM%		IPB%		
1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	
22	22	1320	1300	38	38	17	16	53	58	1
106	107	2080	3020	106	111	96	98	84	75	3
48	64	930	1120	58	70	15	18	53	57	1
63	72	1130	1120	56	60	16	21	79	70	4
65	74	1330	1300	73	78	63	60	56	53	3
30	42	1080	1190	50	55	18	20	60	55	2
34	40	1180	1240	32	34	11	12	39	38	2
34	48	700	780	41	45	6	7	57	57	2
21	21	540	500	19	18	2	2	44	43	2
46	42	2000	2130	48	51	30	33	59	62	2
44	38	1460	1570	44	48	22	25	49	51	1
54	52	1240	1280	53	54	19	22	62	60	4
57	63	2330	2420	72	75	57	64	69	68	3
57	78	1660	1600	62	64	33	43	70	67	2
29	27	790	640	25	20	6	6	59	62	4
45	52	1060	1040	54	53	16	11	82	80	2
56	58	1340	1460	57	62	74	28	64	62	1
63	84	2420	2530	87	91	61	74	70	65	1
39	50	2140	2420	49	55	29	38	57	61	1
55	67	2080	2320	96	107	37	16	70	77	3
24	20	760	680	24	21	7	5	46	43	2
30	35	1060	1100	41	43	9	16	87	75	3
18	19	1280	1440	31	35	16	16	47	55	3
75	83	1600	1740	61	66	36	44	70	67	1
50	50	2200	2300	71	74	47	50	56	60	2
47	52	1538	1625	54	57	28	30	62	61	22
20	23	712	774	22	24	22	24	13	11	10
P<0.01		P<0.001				P>0.05		P>0.05		

Astm bronşic – corinfar



**Parametrii ventilatori (vezi fig. 8/3)**

- CVF-E – a crescut semnificativ în valori absolute de la  $2779 \pm 1689$  ml la  $3058 \pm 1708$ , iar în procente de la  $67 \pm 29\%$  față de ideal la  $73 \pm 28\%$ ;
- PEF – a crescut semnificativ de la  $40 \pm 17$  la  $46 \pm 24$ ;

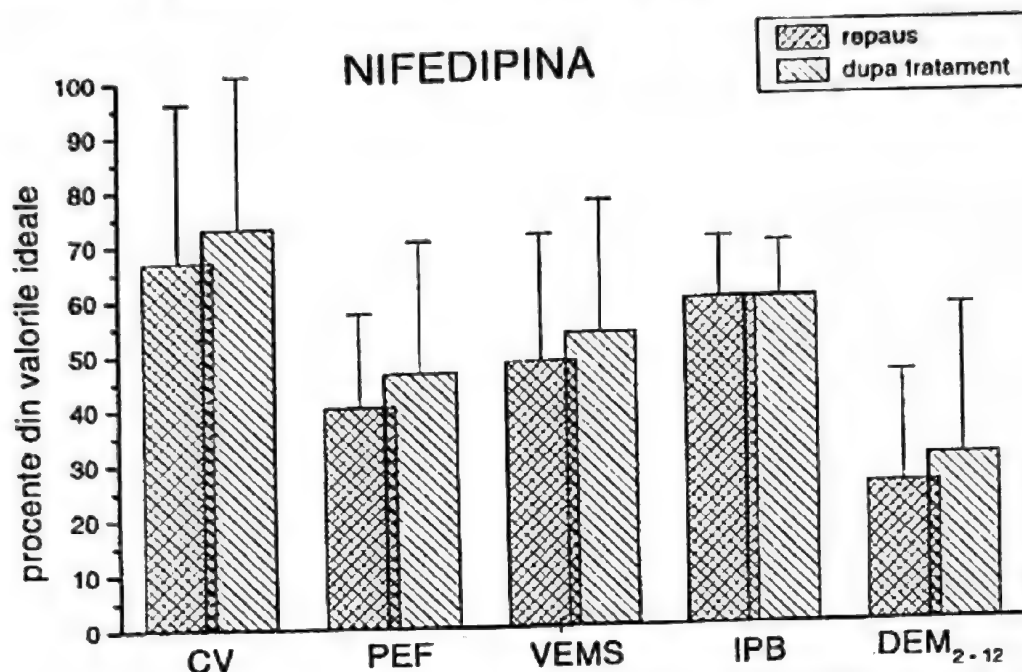


Fig. 8.3 – Variați parametrilor ventilatori la bolnavi cu astm bronșic după o doză unică de nifedipină (20 mg)

– VEMS – a crescut foarte semnificativ statistic de la  $1678 \pm 1141$  ml la  $1854 \pm 1206$  ml, în procente de la  $48 \pm 23\%$  la  $53 \pm 24\%$ , arătând o reducere a gradului de obstrucție bronșică;

– DEM<sub>2-12%</sub> – crește de la  $25 \pm 20\%$  la  $30 \pm 27\%$ , indicând de asemenea reducerea obstrucției bronșice;

– IPB – parametrul obișnuit de apreciere al gradului de obstrucție bronșică ce se calculează raportând VEMS-ul în ml x 100 la CVF-E determinată – nu s-a modificat fiind de  $59 \pm 11\%$  la prima determinare și  $59 \pm 10\%$  la cea de-a doua, datorită faptului că a crescut în același raport atât CVF-E cât și VEMS-ul.

Calculul rezultatului efectului subiectiv, apreciat de bolnav în urma administrării medicamentului, indică o medie de  $2 \pm 0,8$  (1 = efect bun, 2 = mediu, 3 = nul, 4 = agravare).

**ASTM BRONȘIC – CORINFAR (Tabel 2)**

Cuprinde 25 de pacienți care au primit două comprimate de Corinfar.

- vârsta medie =  $45 \pm 12$  ani
- sexul: masculin = 28%; feminin = 72%;
- vechimea bolii =  $8 \pm 7$  ani.

**Simptome:**

- dispnee au prezentat 92% dintre pacienți;
- wheezing-ul a fost prezent la 64%;
- raluri bronșice au prezentat 56%.

Acestea au rămas nemodificate la a II-a determinare.

**Parametrii cardiovasculari**

- Tensiunea arterială maximă a scăzut semnificativ de la  $137 \pm 20$  la  $128 \pm 17$  mmHg;
- Tensiunea arterială minimă nu s-a modificat semnificativ, de la  $87 \pm 12$ , la  $84 \pm 12$  mmHg; (vezi fig. 8/2)
- Frecvența cardiacă a crescut foarte semnificativ de la  $80 \pm 12$  la  $88 \pm 12$  bătăi pe minut.

**Parametrii ventilatori (vezi fig.8/4)**

- CVF-E – a crescut semnificativ de la  $2522 \pm 1128$  ml la  $2671 \pm 1271$  ml, iar procentual de la  $71 \pm 24\%$  la  $76 \pm 27\%$ ;
- PEF% – a crescut semnificativ de la  $47 \pm 20$  la  $52 \pm 23$ ;
- VEMS – a crescut foarte semnificativ de la  $1538 \pm 712$  ml la  $1625 \pm 774$ , iar în procente față de ideal  $54 \pm 22$  la  $57 \pm 24$ ;

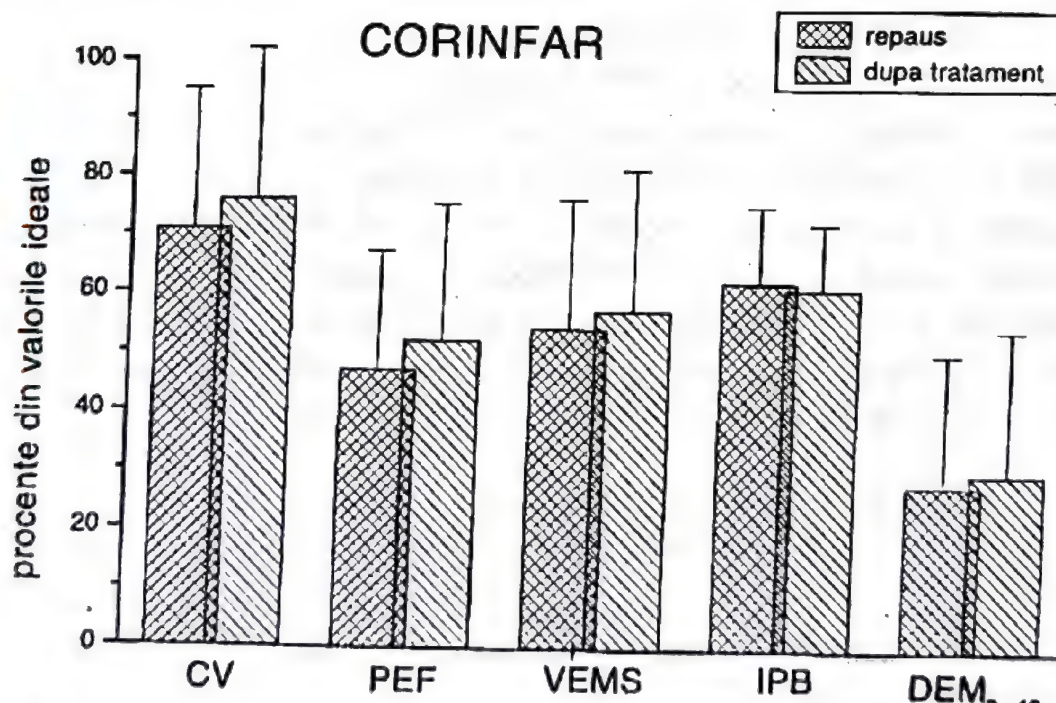


Fig. 8.4 – Variația parametrilor ventilatori la lotul cu astm bronșic după administrarea de corinfar în doză unică



– DEM% – nu s-a modificat;

– IPB – nu s-a modificat semnificativ din aceeași cauză prezentată la discuția de la tabelul nr. 1.

Aprecierea subiectivă a efectului medicamentului indicată de bolnavi a prezentat o medie de  $2 \pm 0,8$ .

S-a calculat testul t nepereche CORINFAR-NIFEDIPINĂ pentru a compara efectele celor două substanțe nifedipină și corinfar.

Aceste teste s-au efectuat pentru a verifica omogenitatea loturilor, omogenitate care s-a confirmat statistic.

În partea a II-a, testul t nepereche pentru diferențe a fost aplicat pentru diferențele parametrilor între cele două determinări induse de aplicarea tratamentului cu nifedipină și corinfar.

Din rezultatele obținute se observă că între cele două tratamente nu apar diferențe semnificative.

În concluzie:

● Nifedipina în doză unică de 20 mg administrată sublingual a modificat semnificativ următorii parametri la lotul cu astm bronșic:

- tensiunea arterială maximă a scăzut
- tensiunea arterială minimă a scăzut
- frecvența cardiacă a crescut
- capacitatea vitală (CVF-E) a crescut
- debitul expirator maxim de vârf (PEF) a crescut
- volumul expirator maxim pe secundă (VEMS) a crescut
- debitul mediu expirator maxim ( $DEM_{2-12}$ ) a crescut.

● Indicele de permeabilitate bronșică (IPB) nu s-a modificat deoarece au crescut ambii termeni ai raportului, atât VEMS-ul cât și capacitatea vitală

● Calcularea testului t nepereche pentru diferențele induse de nifedipină și corinfar nu indică nici o diferență semnificativă. Ambele medicamente au acționat în același sens și cu aceeași eficiență asupra parametrilor urmăriți.

#### **8.2.2. Efectul nifedipinei în tratament de trei zile la bolnavii cu astm bronșic în stadiu stabilizat și respectiv bronhopneumopatie cronică obstructivă**

Au fost investigate două loturi de bolnavi internați în clinicile medicale ale Spitalului județean sau provenind din serviciul de Alergologie.

**Lotul I – ASTM BRONȘIC = 60 bolnavi**

**Lotul II – BRONHOPNEUMOPATIE CRONICĂ OBSTRUCTIVĂ (BPOC) = 60 bolnavi**

## Lotul 1 ASTM BRONȘIC

După completarea datelor anamnestice s-a determinat tensiunea arterială, ECG și parametri ventilatori de repaus, care s-au repetat după inhalarea de aerosoli cu soluție salină hipertonică prin nebulizare ultrasonică.

Fiecare pacient a primit 30 mg/zi nifedipină sau corinfar timp de trei zile, studiul fiind dublu orb. La sfârșitul tratamentului s-au repetat investigațiile. Prelucrarea statistică s-a efectuat în Laboratorul de informatică medicală a UMF Timișoara, utilizând pachetul de programe statistice Epi-info-5.

**Tabelul 3 – PRELUCRĂRI** – conține media și deviația standard a tuturor parametrilor.

Parametrii obținuți la determinarea inițială au primit indicele 1;

– indicele 2 reprezintă valoarea obținută după aerosoli;

– cu indicele 3 sunt cei obținuți după trei zile de tratament cu nifedipină, respectiv corinfar;

– iar cu indicele 4 valoarea obținută după aerosoli.

S-a calculat semnificația statistică a modificărilor parametrilor realizați la determinările după trei zile de tratament, cât și după aerosoli.

		LOT NIFEDIPINA (n=31)			LOT CORINFAR (n=29)		
seria 1	seria 2	media dif.	deviația standard	p	media dif.	deviația standard	p
TMAX1	TMAX3	10,32	15,26	<0,01	8,97	16,11	<0,01
TMIN1	TMIN3	6,61	9,61	<0,01	4,66	9,90	<0,05
FC1	FC3	-2,90	14,45	>0,05	-11,48	14,98	<0,01
CVP1	CVP2	1,94	6,32	>0,05	2,45	7,62	>0,05
DEP1	DEP2	0,90	8,49	>0,05	1,24	7,18	>0,05
VEMSP1	VEMSP2	0,94	7,05	>0,05	1,28	5,40	>0,05
DEM1	DEM2	3,74	8,28	<0,05	3,41	6,56	<0,01
IPB1	IPB2	-0,77	6,72	>0,05	-0,52	5,16	>0,05
CVP3	CVP4	1,87	6,77	>0,05	-0,17	6,82	>0,05
DEP3	DEP4	1,52	7,75	>0,05	0,97	9,21	>0,05
VEMSP3	VEMSP4	1,74	5,19	>0,05	1,83	8,02	>0,05
DEM3	DEM4	2,84	6,47	<0,05	1,14	7,92	>0,05
IPB3	IPB4	0,87	6,26	>0,05	2,72	9,28	>0,05
CVP1	CVP3	-0,71	16,69	>0,05	-3,83	21,60	>0,05
DEP1	DEP3	0,71	14,19	>0,05	-7,03	16,24	<0,05
VEMSP1	VEMSP3	-2,52	16,93	>0,05	-7,14	20,41	>0,05
DEM1	DEM3	-2,39	18,70	>0,05	-7,31	21,30	>0,05
IPB1	IPB3	-2,35	8,91	>0,05	-3,14	8,26	<0,05



## REZULTATELE STUDIULUI

### ASTM BRONȘIC – NIFEDIPINĂ

Cuprinde 31 de bolnavi din lotul de 60, care au fost tratați trei zile cu 30 mg nifedipină.

Vârsta medie =  $40,8 \pm 14,0$  ani

Vârsta bolii =  $7,8 \pm 6,6$  ani

Simptome:

- dispneea – a fost prezentă la 87% dintre bolnavi;
- wheeshing – au prezentat 32% dintre bolnavi;
- raluri bronșice – au fost prezente la 29% dintre bolnavi.

Atât valorile tensiunii arteriale maxime, cât și cele minime au scăzut semnificativ, în schimb frecvența cardiacă nu s-a modificat semnificativ.

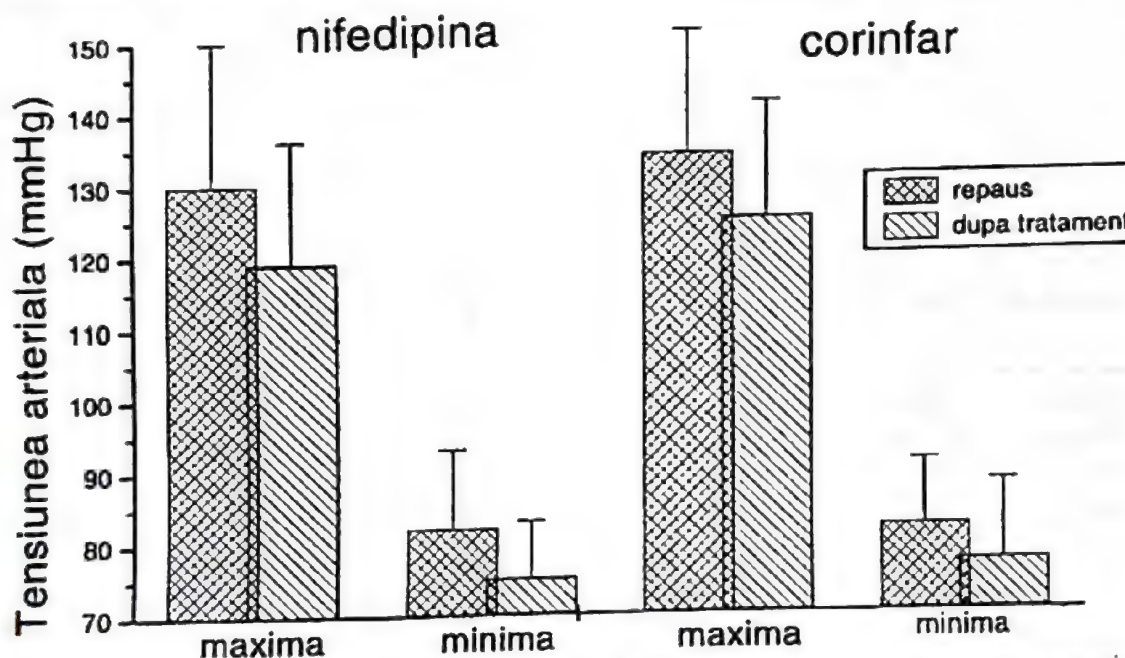


Fig. 8.5 – Valorile tensiunii arteriale înainte și după trei zile de tratament cu 30 mg nifedipină sau corinfar la bolnavii cu astm bronșic

În ceea ce privește capacitatea vitală nu s-au realizat modificări semnificative nici după aerosoli ( $CVP_2$ ,  $CVP_4$ ) și nici după tratamentul cu nifedipină.

Valorile VEMS-ului au fost ușor crescute la determinarea după tratament.

$DEM_{2-12}$  a fost parametrul cel mai sensibil prezentând o scădere semnificativă după aerosoli cu soluție salină hipertonică și o creștere după cele trei zile de tratament.

Aprecierea subiectivă a efectului medicamentului indicată de bolnavi a fost  $1,84 \pm 1,04$ .

## ASTM BRONȘIC – LOT CORINFAR

Este reprezentat de 29 pacienți având vârsta medie apropiată de a primului lot.  
Vârsta medie =  $42,72 \pm 15,94$  ani;

Ani boală =  $9,6 \pm 8,6$ .

Simptomele prezentate au fost apropiate procentual:

- dispnee = 75,6%;
- wheezing = 31%;
- raluri bronșice = 13,8%.

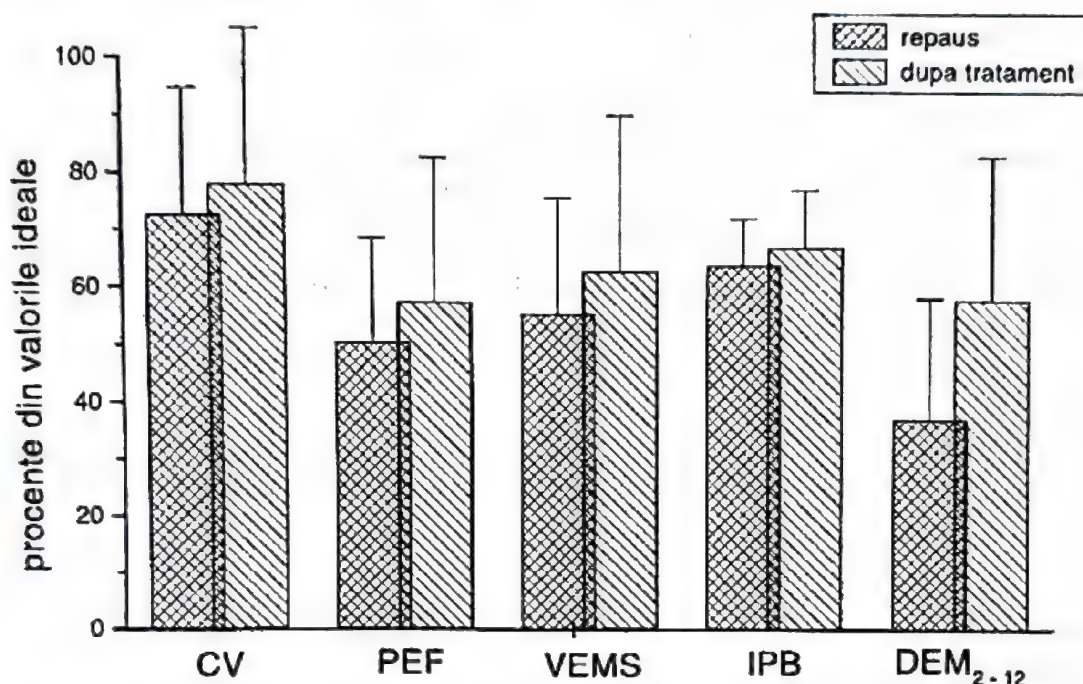


Fig. 8.6 – Variația parametrilor ventilatori după trei zile de tratament cu nifedipină 30 mg sau corinfar, la bolnavi cu astm bronșic

Parametrii cardiovasculari s-au modificat semnificativ și în același sens ca și la lotul anterior (vezi fig. 8/5), iar dintre parametrii ventilatori debitul expirator maxim de vârf (PEF) și indicele de permeabilitate bronșică s-au ameliorat ( $p < 0,05$ ), arătând o reducere a gradului de obstrucție bronșică.

Comparând valorile din repaus (1) și după aerosoli (2) se remarcă modificarea aceluiași  $DEM_{2-12}$  ( $p < 0,01$ ), a cărei valoare crește după tratamentul cu corinfar (3) și nu se mai modifică după efectuarea de aerosoli (4).

Aprecierea subiectivă a efectului medicamentului indicată de bolnavi a fost =  $1,86 \pm 0,99$  variată de la bun (1) la nul (3).



În concluzie, la lotul cu astm bronșic în stadiu stabilizat:

- Nifedipina administrată în doză de 30 mg/zi timp de trei zile a modificat semnificativ valorile tensiunii arteriale maxime și minime

- Deși valorile parametrilor ventilatori: CV, VEMS,  $DEM_{2-12}$  și IPB au crescut, modificările nu sunt statistic semnificative

- Corinfarul, în aceeași doză, a modificat semnificativ pe lângă valorile tensiunii arteriale și debitul expirator maxim de vârf și indicele de permeabilitate bronșică.

Analizând valorile parametrilor ventilatori de repaus s-a observat că lotul de pacienți care au primit corinfar a prezentat și la prima determinare valori mai bune decât cel care a fost tratat cu nifedipină.

S-ar putea aprecia că tratamentul cu blocante ale canalelor de calciu este mai eficient, dacă parametrii sunt mai puțin afectați.

- Aerosolii cu soluție hipertonică, au modificat semnificativ, la ambele loturi un singur parametru DEM, la determinarea de repaus. După tratament, diferența dintre valoarea după aerosoli a scăzut atât după nifedipină, cât și, mai ales, după corinfar

- Aprecierea subiectivă a efectului medicamentului indicată de bolnavi a fost apropiată la cele două loturi.

## Lotul II – BPOC

La lotul de 60 bolnavi cu BPOC s-a efectuat un studiu dublu orb încrucișat, placebo controlat. Studiul s-a făcut timp de șase zile pentru fiecare caz, fiecare bolnav primind și preparat activ și placebo.

Pe lângă investigațiile descrise anterior, în plus acestor bolnavi, li s-a înregistrat ECG la prima determinare și după tratament și s-a urmărit și rezultatul examenului radiologic.

Analiza ECG a evidențiat dintre modificările întâlnite în BPOC:

P pulmonar la 45% dintre bolnavi;

Ax QRS verticalizat = 40%;

Ax QRS deviat la dreapta = 3,3%

Bloc de ramură dreaptă = 8,3%

Parametrii de la prima determinare au fost notați cu indicele 1.

După trei zile de tratament au fost investigați toți bolnavii. Aști parametrii au primit indicele 2, iar după încă trei zile de tratament au primit indicele 3.

Lotul de bolnavi cu BPOC – (vezi tabel 4 – Prelucrări BPOC) – a fost împărțit astfel:

Lot A: 30 cazuri, trei zile tratament 1 = placebo,

trei zile tratament 2 = nifedipină;

Lot B: 30 cazuri, trei zile tratament 1 = nifedipină,

trei zile tratament 2 = placebo.

Lot C = lotul de ansamblu = 60 pacienți.

Vârsta medie a fost de  $56 \pm 8,8$  ani fiind mai crescută la lotul A =  $58,6 \pm 8$ , față de lotul B =  $53,3 \pm 8,9$  ani;

Vechimea bolii a fost în medie =  $10,9 \pm 9$  ani, nefiind diferențe între cele două loturi A și B.

PARAMETRU	LOT A tratament1=placebo		LOT B tratament1=nifedip.		LOT C total (60 cazuri)	
	MEDIA	DEV. STD.	MEDIA	DEV. STD.	MEDIA	DEV. STD.
DISPNEE	93,3%		96,7%		95,0%	
OPRES.	80,0%		73,3%		76,7%	
RALURI	56,7%		53,3%		55,0%	
VIRSTA ANI B.	58,600 11,833	8,054 11,039	53,367 10,000	8,931 6,798	55,98 10,92	8,83 9,14
REPAUS						
TMAX1	133,167	19,095	124,833	15,728	129,00	17,85
TMIN1	79,500	13,022	81,667	10,114	80,58	11,61
FC1	82,833	18,149	75,167	15,512	79,00	17,18
CPV1	52,900	16,204	58,433	19,346	55,67	17,91
DEP1	33,200	14,260	34,367	10,905	33,78	12,60
VEMSP1	39,733	17,644	44,868	19,048	42,30	18,39
DEM1	16,900	14,385	20,700	11,949	18,80	13,25
IPB1	59,133	14,600	62,000	11,504	60,57	13,11
	trat.1=PLACEBO		trat.1=NIFEDIPINA		PLACEBO indiferent 1 sau 2	
TMAX2	132,667	23,295	117,000	13,557	127,42	21,70
TMIN2	79,500	12,955	77,000	12,839	79,17	11,50
FC2	85,600	16,134	78,067	16,985	80,17	16,79
CVF2	52,267	18,488	61,033	22,533	57,83	21,25
DEP2	33,777	15,104	38,200	11,493	36,73	14,44
VEMSP2	39,667	17,393	47,633	21,147	44,07	19,27
DEM2	17,333	12,775	23,367	14,854	20,22	13,22
IPB2	60,600	11,533	62,400	8,724	61,25	9,87
	trat.2=NIFEDIPINA		trat.2=PLACEBO		NIFEDIPINA indiferent 1 sau 2	
TMAX3	126,833	18,731	122,167	18,923	121,92	16,95
TMIN3	78,667	9,371	78,833	10,059	77,83	11,18
FC3	85,367	22,549	74,733	15,887	81,72	20,13
CVF3	54,267	18,417	63,400	22,453	57,65	20,70
DEP3	35,633	13,515	39,700	13,337	36,92	12,51
VEMSP3	42,733	16,993	48,467	20,328	45,18	19,18
DEM3	18,233	13,390	23,100	13,236	20,80	14,26
IPB3	63,033	9,960	61,900	8,027	62,72	9,29



Dintre simptomele prezentate: dispneea a fost prezentă la 95% dintre pacienți, iar raluri bronșice la 55% și 76% acuzau opresiune toracică.

Examenul radiologic a evidențiat următoarele aspecte: – staza pulmonară centrală cu accentuarea desenului hilar interstițial bilateral = 53%. Uneori desenul interstițial era accentuat pe toată aria pulmonară.

– Emfizem pulmonar în 26% din cazuri;

– Pahipleurită apicală bazală și, adeseori, latero-bazală = 15%.

Am analizat semnificațiile testului „t pereche” BPOC.

La lotul A – valorile obținute la a II-a determinare după tratamentul 1 placebo sunt foarte apropiate față de prima determinare (repaus) neexistând nici o diferență statistic semnificativă.

După următoarele trei zile de tratament cu nifedipină, tensiunea arterială maximă a scăzut semnificativ ( $p < 0,05$ ), iar parametrii ventilatori au crescut, dar nesemnificativ statistic.

La lotul B care a avut ca tratament 1 nifedipina, la a doua determinare, au scăzut atât valorile tensiunii arteriale maxime ( $p < 0,01$ ), cât și ale minimei ( $p < 0,05$ ).

Dintre parametrii ventilatori, debitul expirator maxim de vârf a fost cel mai îmbunătățit ( $p < 0,05$ ).

După următoarele trei zile de tratament 2 placebo, tensiunea arterială revine la o valoare apropiată de la prima determinare, în schimb parametrii ventilatori se îmbunătățesc în continuare, diferență semnificativă înregistrând pe lângă debitul expirator maxim de vârf și capacitatea vitală ( $p < 0,05$ ).

Comparând toate valorile parametrilor lotului A cu cel B prezentate prin testul STUDENT de data aceasta test „t nepereche”, la prima determinare între cele două loturi nu s-a găsit nici o diferență semnificativă.

La a doua determinare după tratamentul 1, diferența este semnificativă ( $p < 0,01$ ) numai în cazul tensiunii arteriale maxime care a scăzut la lotul B, deși toate valorile obținute după tratament 1 nifedipină (lot B) sunt mai bune decât cele obținute după trei zile de tratament 1 placebo (lot A).

La a treia determinare după tratamentul 2, între cele două loturi, rezultate mai bune sunt tot la lotul B, cei care au luat nifedipina ca prim tratament, evoluția spre îmbunătățire fiind mai rapidă.

Lotul de ansamblu = 60 de pacienți (notat cu C):

- Analizând rezultatele întregului lot după tratamentul de trei zile cu nifedipină, 30 mg/zi – indiferent dacă a luat-o ca tratament 1 sau 2 față de valorile de la prima determinare s-au obținut modificări semnificative în ceea ce privește scăderea tensiunii arteriale maxime ( $p < 0,01$ ) și creșterea debitului expirator de vârf ( $p < 0,05$ ) și a VEMS-ului ( $p < 0,05$ )

- Comparând valorile obținute după placebo, indiferent 1 sau 2, față de cele din repaus, nu s-a obținut nici o modificare semnificativă:

- Nifedipina administrată ca tratament 1 a indus modificări mai bune, care s-au îmbunătățit în continuare – Lot B, față de lotul A unde a fost administrată după trei zile de placebo.

La cei care au luat nifedipină ca tratament evoluția spre ameliorare a fost mai rapidă

- Testele de provocare prin aerosoli cu soluție salină hipertonică la acest lot de BPOC, au produs modificări nesemnificative

- Aprecierea subiectivă a tratamentului a fost mai bună decât la cei cu astm bronșic, fiind de  $1,40 \pm 0,56$ , deci o apreciere între 1 care reprezenta un rezultat bun și 2 mediu.

Considerăm că această îmbunătățire a stării subiective s-ar datora efectului realizat de tratamentul cu nifedipină asupra ameliorării circulației pulmonare.

În ceea ce privește aprecierea subiectivă a tratamentului, acesta a fost de  $1,40 \pm 0,56$  pe întregul lot,  $1,433 \pm 0,56$  la lotul A și  $1,36 \pm 0,55$  la lotul B.

Menționăm că bolnavii fiind internați în această perioadă în clinicile medicale au urmat și alt tratament.

Privind rolul blocantelor canalelor de calciu unele studii arătau absența efectelor acestora asupra tonusului bronșic bazal la oameni.

Patakas și colaboratorii arată ca nifedipina scade tonusul bronhial și diminuează modificarea circadiană a rezistenței căilor aeriene. La 11 pacienți cu astm bronșic și scăderi frecvente peste noapte a PEFR de 15% au demonstrat o bronhodilatație semnificativă, restrânsă numai la căile aeriene mari, după administrarea unei singure doze de 10 mg de nifedipină. S-a observat o creștere semnificativă a PEFR, a conductanței specifice a căilor aeriene (sGAW) și VEMS-ului la o oră și, în special, la două ore după administrarea nifedipinei.

În timpul a patru zile de tratament cu nifedipină,  $3 \times 10$  mg/zi, scăderea PEFR în timpul nopții a fost mai mică, statistic semnificativă, decât scăderea medie a PEFR în timpul altor patru zile de tratament cu placebo. Deci, nifedipina influențează tonusul bronhial bazal la pacienții cu astm și diminuează modificarea circadiană a rezistenței căilor respiratorii.

Alte studii au încercat să demonstreze efectele obținute în urma unui tratament prelungit cu BCCa în astm. Astfel s-a administrat trei săptămâni 60 mg nifedipină pe zi, comparativ cu placebo, la 11 pacienți cu astm bronșic sever. În timpul tratamentului a scăzut durata crizelor de astm și de asemenea nevoia de stimulenți  $\beta$ -adrenoreceptori inhalați.

Pentru a urmări efectele BCCa *in vivo*, s-a realizat un studiu prospectiv pentru evaluarea efectului nifedipinei pe 60 subiecți: 15 cu astm bronșic, 15 cu BPOC, 15 cu angină pectorală și 15 normali. Toți subiecții au primit nifedipină 20 mg sublingual. Cu excepția subiecților normali s-a găsit o îmbunătățire semnificativă ( $p < 0,05$ ) a VEMS și CVF-E după administrarea nifedipinei. Efectul bronhodilatator maxim a fost observat la o oră după administrarea medicamentului și s-a menținut



și în ora a doua. Acest efect are o importanță clinică deosebită pentru pacienții cu angină pectorală și BPOC sau astm bronșic, deoarece agenții blocați  $\beta$ -adrenergici utilizați pentru a controla simptomele anginei pot induce o bronhoconstricție marcată la acești pacienți cu BPOC sau astm bronșic (TOWNLEY G. R., 1988).

În unele studii asupra unor subiecți astmatici, se observă eșecul verapamilului și nifedipinei de a inhiba bronhoconstricția indusă de metacolină și histamină (PATEL K. R., 1981), în timp ce scăderea VEMS-ului indusă de efort a fost prevenită atât de verapamil, cât și de nifedipină (PATEL K. R., 1981). Rezultate similare au fost publicate de Miadona. Verapamilul în prevenirea astmului indus de alergen, pare a acționa predominant prin inhibiția degranulării mastocitare.

Din studiile analizate de Townley reiese că deși BCCa protejează împotriva crizelor de astm induse de efort, hiperventilație de aer rece uscat sau inhalare de apă, efectul asupra astmului indus de alergeni este controversat. So și colaboratorii au arătat absența acțiunii verapamilului în prevenirea astmului indus de alergen (O'BYRNE 1990).

Potecția BCCa împotriva provocării la efort și alergen, dar nu împotriva metacolinei ar sugera un efect asupra mastocitelor căilor respiratorii. Deoarece  $\text{Ca}^{2+}$  joacă un rol important în reacțiile alergice, în special în legătură cu mecanismele de eliberare a mediatorilor chimici din celulele mastocitare și bazofile, ar fi posibil ca reacțiile alergice să fie suprimate în stadiul timpuriu inhibând influxul de  $\text{Ca}^{2+}$  în aceste celule.

Un studiu privind efectul galopamilului în inducerea răspunsului precoce și tardiv la oia alergică, a arătat că galopamilul administrat intravenos sau prin aerosoli inhibă răspunsul tardiv la toate oile, în timp ce-l atenuează pe cel precoce la 66% din animale, efectul fiind egal între aerosoli și administrarea i.v. Inhibarea răspunsului tardiv apare independent de cel precoce. Deoarece  $\text{Ca}^{2+}$  este necesar pentru activitatea enzimei 5-lipoxigenazei observații *in vitro* și *in vivo* arată un efect inhibitor al BCCa asupra sintezei și eliberării de leucotriene. E posibil ca galopamilul să inhibe în special sinteza și eliberarea de leucotriene (D'BROT J., 1989).

Alte observații arată că verapamilul inhibă eliberarea de leucotriene din fragmente de plămân la concentrații mult mai scăzute decât cele necesare pentru a inhiba și eliberarea de histamină.

Din studiile noastre clinice privind efectul BCCa asupra bronhomotricității se poate remarca:

- Nifedipina are un efect bronhomotor, constând în ameliorarea efectului obstructiv bronhospastic
- Efectul este mai evident în astmul cu modificări bronhospastice în puseu acut la care se constată efecte nete bronhodilatatoare

- În stadiu stabilizat de astm bronșic și BPOC, nifedipina, administrată timp de trei zile a modificat semnificativ debitul expirator maxim de vârf (PEF) și VEMS

- Aerosolii cu soluție salină hipertonică au modificat semnificativ la astmul bronșic un singur parametru  $DEM_{2-12}$ , la determinarea din repaus, pentru ca după cele trei zile de tratament cu BCCa, modificarea să nu mai fie semnificativă. Această observație este în concordanță cu multiplele lucrări care prezintă efectul protector evident al BCCa împotriva bronhoconstricției indusă de efortul fizic datorită modificărilor osmolarității în căile respiratorii. Hiperosmolaritatea produsă datorită hiperventilației din efortul fizic, ar induce ca și  $Ca^{2+}$  degranularea mastocitelor.

- În domeniul explorării funcționale s-au realizat progrese mai ales în depistarea fazei preclinice a bolii, respectiv a suferinței căilor respiratorii mici. Obstrucția acestora nu modifică nici VEMS-ul, nici rezistența la flux a căilor respiratorii. Pentru aceasta se pot utiliza debitele medii expiratorii maxime. Spre deosebire de VEMS acestea depind numai de proprietățile mecanice ale plămânului, nu și de forța musculară. Cu ajutorul debitelor expiratorii maxime se poate decela precoce obstrucția la flux în căile aerifere, atunci când VEMS-ul este normal, pentru că forța musculară compensează efectele îngustării calibrului bronșic în conductele aerifere distale (DUȚU ȘT., 1997).

- Efectele pozitive de ameliorare a stării generale și bronhospastice sunt semnificative din punct de vedere subiectiv și mai bune la cei cu BPOC. Considerăm că ameliorarea simptomatologiei în stadiul stabilizat atât în BPOC, cât și în astmul bronșic se datorează în parte și reducerii hipertensiunii din circulația pulmonară.

- Eliberarea  $Ca^{2+}$  din rezervele intracelulare este probabil cea mai importantă sursă de  $Ca^{2+}$  pentru contracția căilor respiratorii.

Medicamente care inhibă eliberarea  $Ca^{2+}$  din aceste rezerve, precum TMB-8 s-ar putea să aibă efecte evidente, dar încă nu sunt selective și prea toxice. Heparina este un inhibitor competitiv eficace al legării  $Ins(1,4,5)P_3$  pe reticulul sarcoplasmatic, dar nu va putea fi utilizată în terapie deoarece nu are posibilitatea să intre în celulă (BARİTIS P. J., 1991). Totuși studii mai recente arată că heparina inhalată exercită un efect protector împotriva unor varietăți de stimuli bronhoconstrictori în astm ca: alergeni (BOWLER S. D., 1993), efort (AHMED T., 1993) și AMP (POLOSA R., 1997). Acțiunea antialergică a heparinei poate fi explicată prin inhibiția eliberării mediatorilor din mastocite. În plus heparina poate lega histamina.

- Intrarea  $Ca^{2+}$  necesar contracției mușchiului neted al căilor respiratorii se realizează în special prin canale operate de receptori (ROC) și ca aspect prospectiv sunt așteptate noi medicamente care să acționeze pe aceste canale.



### 8.3. Variația rezistenței la flux și conductanței căilor respiratorii la pacienții astmatici

Rezistența la flux ( $R_{aw}$ ) și reciproca sa, conductanța căilor respiratorii ( $G_{aw}$ ) permit aprecierea gradului de obstrucție bronșică (MADAMA V. C., 1993). (MAREK W., ULMER W. T., 1995). Conductanța specifică a căilor respiratorii este utilă pentru aprecierea reactivității traheobronșice în urma terapiei bronhodilatatoare sau a testelor de provocare bronșică.

S-a urmărit variația acestor parametri în astmul bronșic stabilizat la adulți și copii, pentru a surprinde aspecte particulare legate de vârstă (vezi **tabelul nr. 5**).

Au fost luate în studiu două loturi de pacienți cu astm bronșic stabilizat:

- un lot de 20 pacienți astmatici adulți cu vârstă medie 32 de ani, din evidența Clinicii de pneumoftiziologie a Spitalului „V. Babeș” din Timișoara
- un lot de 10 copii cu astm bronșic, cu vârstă medie 12 ani, din evidența Clinicii de pediatrie a Spitalului „Bega”.

**Tabel nr. 5**

**Loturile investigate, date clinice**

Date	Astm bronșic adulți		Astm bronșic copii	
Număr subiecți	20		10	
Vârsta medie (ani)	32±12		12±3	
Scor clinic	7		7	
Simptomatologie clinică	Dispnee	82%	Dispnee	68%
	Wheezing	65%	Wheezing	54%
	Tuse	60%	Tuse	58%
	Raluri	70%	Raluri	60%
Forma clinică de boală	Ușoară	48%	Ușoară	90%
	Medie	52%	Medie	10%

Toți pacienții prezentau un tablou de astm bronșic stabilizat, formă ușoară sau medie, cu un scor clinic 7 (după criteriile NIH), cu un istoric de boală între unu și nouă ani pentru lotul de adulți, între doi și cinci ani pentru lotul de copii. La lotul de copii astmatici s-au dozat imunoglobulinele E serice, evidențiindu-se o creștere de două-trei ori a valorii lor peste nivelul corespunzător vârstei. S-au inclus în studiu numai pacienți fără semne de infecție pulmonară în cele patru săptămâni anterioare testării.

Administrarea  $\beta$ -adrenomimeticilor și corticoterapia s-au întrerupt cu 12 ore înaintea testării, pentru a evita interacțiunile medicamentoase.

## PROBE FUNCȚIONALE PULMONARE:

S-a determinat parametrii ventilometrici uzuali și pletismografici prin intermediul unui pletismograf corporeal MGC 1085D, prevăzut cu un sistem de înregistrare și prelucrare computerizată a datelor de spirografie, expirografie forțată, înregistrarea curbei flux-volum și un sistem de înregistrare și prelucrare a principalilor parametri pletismografici.

Pentru determinarea parametrilor pletismografici (MADAMA V. C., 1993; DUȚU ȘT., 1997), pacientul stă în cutia pletismografului închisă ermetic și respiră în piesa bucală conectată la sistemul de colectare a datelor. Pentru determinarea Raw este necesară măsurarea simultană și continuă a trei parametri: presiunea alveolară ( $P_A$ ), presiunea atmosferică, respectiv presiunea bucală ( $P_B$ ) și fluxul de aer instantaneu ( $V$ ). Dacă presiunea atmosferică și fluxul de aer instantaneu se pot determina numai prin pletismografie corporeală, pacientul efectuând o respirație tip „panting” la nivelul volumului curent, cu o frecvență de 1–2 respirații/secunde, se înregistrează o curbă flux-volum în formă de „S”. Se trasează tangenta prin punctul de flux 0 al curbei, cu limitele definite la +0,5 l/s și –0,5 l/s, și se obține raportul flux/presiune din cutie ( $V/P_{CUTIE}$ ). În timpul ciclului respirator, fluxul de aer se întrerupe scurt (de obicei la sfârșitul expirului) și se înregistrează presiunea la nivelul obstrucției traheale.

Într-un sistem static, în absența fluxului de aer în plămân, presiunea bucală, respectiv traheală este egală cu presiunea alveolară, dacă glota este deschisă. În aceste condiții, se corelează modificarea presiunii din cutia pletismografului cu presiunea bucală și se determină raportul presiune bucală/presiune din cutie ( $P_B/P_{CUTIE}$ ) care echivalează raportul presiune alveolară/presiune din cutie ( $P_A/P_{CUTIE}$ ).

Cunoscând factorul de calibrare pentru transducerul bucal și pentru flux, se calculează Raw prin formula:

$$Raw = \frac{P_A/P_{CUTIE}}{V/P_{CUTIE}} \times \frac{\text{Factor calibrare transducer bucal}}{\text{Factor calibrare pneumotahograf}}$$

Conductanța căilor respiratorii se calculează ca reciproca Raw:  $Gaw = 1/Raw$ , iar conductanța specifică căilor respiratorii se calculează prin raportarea  $Gaw$  la volumul pulmonar (VTG):  $sGaw = 1/Raw/VTG$ .

La pacienții cu valori ale VEMS-ului sub 80% din valoarea ideală, s-a efectuat testul de responsivitate bronșică prin administrarea inhalatorie a 50μg Salmeterol ( $\beta_2$ -adrenomimetic selectiv), folosind un spacer MDI, urmată de repetarea probelor după 20 de minute.



**REZULTATE:**

Toți subiecții investigați au fost capabili să efectueze testele funcționale pulmonare.

**A. Lotul de pacienți astmatici adulți:**

S-a evidențiat, în toate cazurile, o modificare a parametrilor ventilometrici uzuali care permite încadrarea lor în disfuncțiile ventilatorii de tip obstructiv: scăderea raportului VEMS/CV sub limitele corespunzătoare vârstei, scăderea debitelor ventilatorii medii, scăderea VEMS-ului ( $70 \pm 8\%$ ) și a PEF-ului ( $62 \pm 15\%$ ) (vezi tabelul nr. 6). Testarea responsivității bronșice prin administrarea inhalatorie a Salmeterolului și repetarea investigațiilor la 20 minute a evidențiat o creștere semnificativă a VEMS-ului (peste 15% din valoarea bazală) ca semn al reversibilității obstrucției bronșice, caracteristică reactivității bronho-motorii în astmul bronșic.

**Tabel nr. 6****Parametrii ventilometrici uzuali la loturile cu astm bronșic**

PARAMETRUL	LOT ADULȚI	LOT COPII
CV	$85 \pm 10\%$	$95 \pm 8\%$
VEMS	$70 \pm 8\%$	$83 \pm 16\%$
VEMS/CV	<limita corespunzătoare vârstei	<limita corespunzătoare vârstei
FEF 25%	$58 \pm 12\%$	$84 \pm 8\%$
FEF 50%	$43 \pm 7\%$	$69 \pm 15\%$
FEF 75%	$41 \pm 8\%$	$62 \pm 10\%$
PEF	$62 \pm 15\%$	$79 \pm 16\%$

Pentru parametri pletismografici (vezi tabelul nr. 7), s-au evidențiat valori crescute ale Raw dar în procente variabile, atingând în unele cazuri creșteri de două-trei ori față de valorile normale (Raw normal la adulți variind între 0,15–0,25 kPa/1/s sau 0,5–2,5 cmH<sub>2</sub>O/1/s).

În paralel cu creșterea Raw s-a înregistrat scăderea Gaw ( $51 \pm 5\%$ ) și a sGaw ( $66 \pm 4\%$ ). De asemenea, s-a evidențiat creșterea semnificativă a volumului rezidual

**Tabel nr. 7****Parametrii pletismografici la loturile cu astm bronșic**

PARAMETRUL	LOT ADULȚI	LOT COPII
CPT	$143 \pm 14\%$	$120 \pm 10\%$
VR/CPT	$39 \pm 4\%$	$27 \pm 4\%$
Raw	$128 \pm 7\%$	$80 \pm 12\%$
Gaw	$51 \pm 5\%$	$128 \pm 9\%$
sGaw	$66 \pm 4\%$	$116 \pm 5\%$



(VR) și prin aceasta a capacității pulmonare totale (CPT), respectiv un raport VR/CPT crescut ( $39 \pm 4\%$ ). După Salmeterol s-a înregistrat o scădere semnificativă a Raw în paralel cu creșterea Gaw și a sGaw ( $p < 0,001$ ).

## B. Lotul de pacienți astmatici copii

Determinarea parametrilor ventilometrici uzuali a evidențiat la lotul de copii astmatici valori în limite fiziologice ale VEMS-ului, PEF-ului, un raport VEMS/CV în limitele corespunzătoare vârstei și o reducere moderată a debitelor expiratorii medii (vezi **tabelul nr. 6**).

Pentru parametrii pletismografici (vezi **tabel nr. 7**), s-au evidențiat valori ale Raw în limitele corespunzătoare vârstei ( $80 \pm 12\%$ ) în paralel cu menținerea Gaw ( $128 \pm 9\%$ ) și a sGaw ( $116 \pm 5\%$ ) în limitele fiziologice. De remarcat că la copii, Raw se consideră normal până la 3,5–4,95 cmH<sub>2</sub>O/1/s. De asemenea, s-au evidențiat modificări de mică amploare ale volumului rezidual (care nu depășesc 20–30% față de valorile normale) și ale capacității pulmonare totale ( $120 \pm 10\%$ ). Raportul VR/CPT a fost crescut:  $27 \pm 4\%$ , față de un raport mediu de 22%, cât este normal la această vârstă.

La lotul de copii, testul de bronhodilație la Salmeterol nu a fost practicat datorită menținerii VEMS-ului în limitele normale.

În formele incipiente de astm bronșic stabilizat la copil, parametrii ventilometrici uzuali sunt în limite normale și tot în limite normale se situează Raw și reciproca sa, Gaw. Această imposibilitate de obiectivare a debutului unei obstrucții în căile respiratorii mici se datorește distribuției particulare a Raw de-a lungul căilor respiratorii: 40% în căile respiratorii superioare, 50% în căile respiratorii inferioare centrale și numai 10% în căile respiratorii inferioare periferice, considerată de autori o adevărată „zonă tăcută” (BYLIN G., 1995; LI J. T., 1996).

În formele de astm bronșic cronic al adultului, se evidențiază o creștere a Raw și, respectiv, o scădere semnificativă a Gaw chiar în condiții bazale, stabilizate de boală, ca semn al obstrucției bronșice. Creșterea Raw și scăderea Gaw se corelează linear cu scăderea VEMS, iar variațiile lor se corelează cu severitatea obstrucției bronșice. Determinarea Raw permite aprecierea responsivității bronșice la variații agenți farmacologici, așa cum este Salmeterolul. Administrarea lui inhalatorie, determină la pacienții astmatici o creștere semnificativă a VEMS-ului (peste 20% față de valoarea bazală) și o reducere a Raw (orice creștere a calibrului ductelor determinând o modificare a Raw egală cu raza la puterea a patra) în paralel cu creșterea Gaw și a sGaw.

Creșterea Raw la pacienții astmatici adulți se constată în toate cazurile investigate, dar cu mari variații interindividuale: de la creșteri moderate până la



valori de două-trei ori peste valorile normale. Creșterea Raw, chiar în fazele stabile clinic, fără simptomatologie manifestă, precum și reducerea sa semnificativă după testul de bronhodilatatie este consemnată și de alți autori, ca indice al obstrucției bronșice dar și al reversibilității sale. Madama (1993) consideră utilă determinarea Raw pentru evaluarea gradului de obstrucție bronșică și propune o încadrare a severității acesteia în raport cu creșterea Raw.

**Tabel nr. 8**  
**Severitatea obstrucției căilor respiratorii în raport cu valoarea Raw**

Raw (cmH <sub>2</sub> O/l/s)	SEVERITATE
2,8-4,5	ușor
4,5-8,0	moderat
>8,0	sever

Într-un studiu efectuat de Bisgaard și colab. (1995) pentru evaluarea eficienței metodelor de monitorizare a funcției pulmonare la copii, s-a evidențiat că determinarea Raw și a sGaw prin pletismografie corporeală, alături de determinarea rezistenței respiratorii prin tehnica întreruperii intermitente (Rint) permit detectarea cazurilor subclinice de

creștere a tonusului bronhomotor, în timp ce măsurarea VEMS-ului nu are aceeași relevanță. Dacă se urmărește răspunsul la metacolină, sensibilitatea Raw, Rint și VEMS este comparabilă, recomandându-se măsurarea lor combinată pentru monitorizarea funcției pulmonare în afecțiunile căilor respiratorii atât la adulți cât și la copii. În plus, Rint este influențată de flux, înregistrându-se o creștere semnificativă a Rint o dată cu creșterea fluxului. Guillemi și Hogg (1995) au evidențiat o corelație semnificativă între valorile Raw, Rint și PEF și severitatea obstrucției căilor respiratorii periferice.

Într-un studiu asupra corelației parametrilor pletismografici cu cei spiografici, Vollmer și Schmidt (1995) au arătat o corelație semnificativă între valorile bazale și după testul de bronhodilație pentru VEMS, Raw, FEF<sub>50</sub> și FEF<sub>25</sub> și au evidențiat și ei că există mari diferențe individuale între rezultatele testelor. Această variabilitate de la caz la caz, ridică problema diferențierii între „responders” și „non-responders” în cazurile de astm, atunci când testele se utilizează pentru diferențierea astmului de BPOC. Casaulta și colab. consideră oportună determinarea lor simultană prin pletismografie la copii astmatici dar și la cei cu sindrom de detresă respiratorie sau fibroză chistică. Această recomandare este de importanță clinică certă, cu atât mai mult cu cât la pacienții tineri, gradul și severitatea hiperinflației este mai mare.

Testul cel mai folosit este VEMS, dar Raw este mai sensibil; într-un studiu pe 148 de bolnavi cu astm bronșic, efectul bronhodilatator a fost semnalat în 96,6% din cazuri de scăderea Raw și în 83,5% de creșterea VEMS, iar MEF<sub>50</sub> nu a dat rezultate pozitive decât în 39,3% din cazuri. În conductele aerifere mici, chiar dacă spasmul mușchiului bronșic a cedat, lumenul canalelor cu diametru mai mic de 2 mm rămâne încă micșorat de hipersecreția celulelor calciforme, edemul mucoasei și de congestia vaselor capilare (DUTU ȘT., 1997).

#### 8.4. Corelația între parametrii ventilometrici de pe curba flux-volum – VEMS, PEF, FEF<sub>x%</sub> și parametrii pletismografici – Raw și sGaw în astmul bronșic

Pentru a corela parametri ventilometrici considerați indicatori ai gradului de obstrucție bronșică, s-au luat în studiu 60 de pacienți cu astm bronșic, ale căror date sunt redate în **tabelul 1**. În funcție de rezultatele testelor funcționale pulmonare, s-au diferențiat grupurile:

- astm bronșic cu răspuns bronhodilatator pozitiv la prima testare (BD+, 34 testări)
- astm bronșic cu răspuns bronhodilatator negativ la prima testare (BD–, 13 testări)
- astm bronșic cu răspuns bronhodilatator pozitiv după șapte zile de corticoterapie orală, cu Prednison 1 mg/kg corp/24 h (BD+CSO, cuprinzând aceleași cazuri din lotul BD–)
- astm bronșic cu disfuncție obstructivă distală, cu valori ale VEMS și PEF  $\geq$  80% și debite medii expiratorii maxime scăzute (13 testări).

**Tabelul nr. 1**

**Caracteristicile clinice ale lotului investigat**

CARACTERISTICILE CLINICE							
VÂRSTĂ	REPARTIȚIA PE SEXE	DURATA BOLII	SIMPTOME*				
33,64 $\pm$ 7,8 ani	• M: 27 (45%) • F: 33 (55%)	5,01 $\pm$ 3,8 ani	W 40%	TE 31,66%	TN 26,66%	D 18,3%	Ex 13,33%
SEVERITATEA BOLII							
TREPT DE SEVERITATE**				SCOR CLINIC***			
• TREAPTA I (ușor intermitent)			10%	• scor 1–3			
• TREAPTA II (ușor persistent,			11,66%	• scor 4–6			
• TREAPTA III (moderat)			78,33%	• scor 6–9			

\* W: wheezing, TE: tuse de efort, TN: tuse nocturnă; D: dispnee, Ex: expectorație

\*\* După Guidelines for the diagnosis and management of asthma, Bethesda, Maryland, 1991

\*\*\* Scor clinic în funcție de frecvența simptomelor

S-a urmărit corelația între VEMS și PEF, considerați parametri standard pentru determinarea gradului de obstrucție bronșică, precum și corelația lor cu debitele expiratorii medii (FEF<sub>x%</sub>), Raw și sGaw, considerați la rândul lor indicatori ai obstrucției bronșice.

S-au corelat valorile lor absolute (în litri, respectiv litri/secundă) și procentuale, față de valoarea prezisă. Determinările s-au făcut pe curba flux-volum, respectiv



prin pletismografie, bazal (preBD) și la 15 minute după administrarea  $\beta_2$ -agonistului inhalator (postBD). Răspunsul la testul de bronhodilație s-a calculat conform formulei:

$$\% \text{modif} = \frac{(\text{postBD} - \text{preBD})}{\text{preBD}} \times 100$$

considerându-se ca răspuns bronhodilatator pozitiv creșterea VEMS sau PEF  $\geq 15\%$  iar în cazul Raw, scăderea  $\geq 40\%$  (RHODES M. L., 1987, MADAMA V. C., 1993, GOLD W. M., 1994, DUȚU ȘT., 1997).

## 1. Corelația VEMS-PEF

### ● Corelația VEMS-PEF în evidențierea obstrucției bronșice

Pentru întreg setul de testări ( $n = 73$ ), valoarea medie absolută a VEMS-ului preBD a fost  $2,37 \pm 0,72$  l iar a PEF-ului preBD de  $5,03 \pm 1,51$  l/s. Responsivitatea bronșică reflectată prin variația procentuală a VEMS-ului și PEF-ului la testul de bronhodilație, este redată în figura 8/7. Comparând cea mai bună valoare a

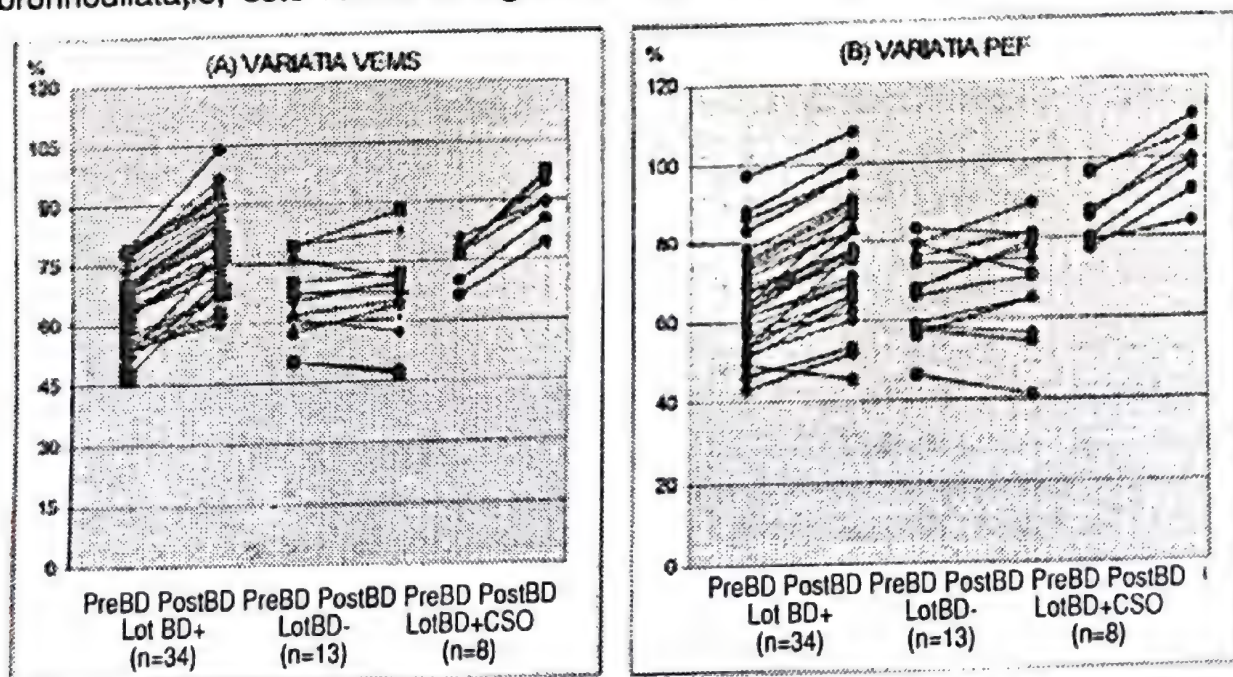


Fig. 8.7 – Responsivitatea bronșică reflectată prin variația procentuală a VEMS-ului (A) și PEF-ului (B) la testul de bronhodilație, la lotul de astmatici cu DVO (preBD: înainte de administrarea bronhodilatatorului; postBD: la 10 min. după bronhodilatator)

VEMS preBD cu valoarea corespondentă a PEF preBD, s-a evidențiat o corelație înaltă ( $r = 0,84$ ;  $p < 0,001$ ) (fig. 8/8, a). O corelație puternică s-a obținut și când s-au luat în calcul valorile procentuale preBD față de valorile prezise ale VEMS ( $73,57 \pm 13,55\%$ ) și ale PEF ( $73,56 \pm 15,85\%$ ) ( $r = 0,68$ ;  $p < 0,0001$ ) (fig. 8/8, b).

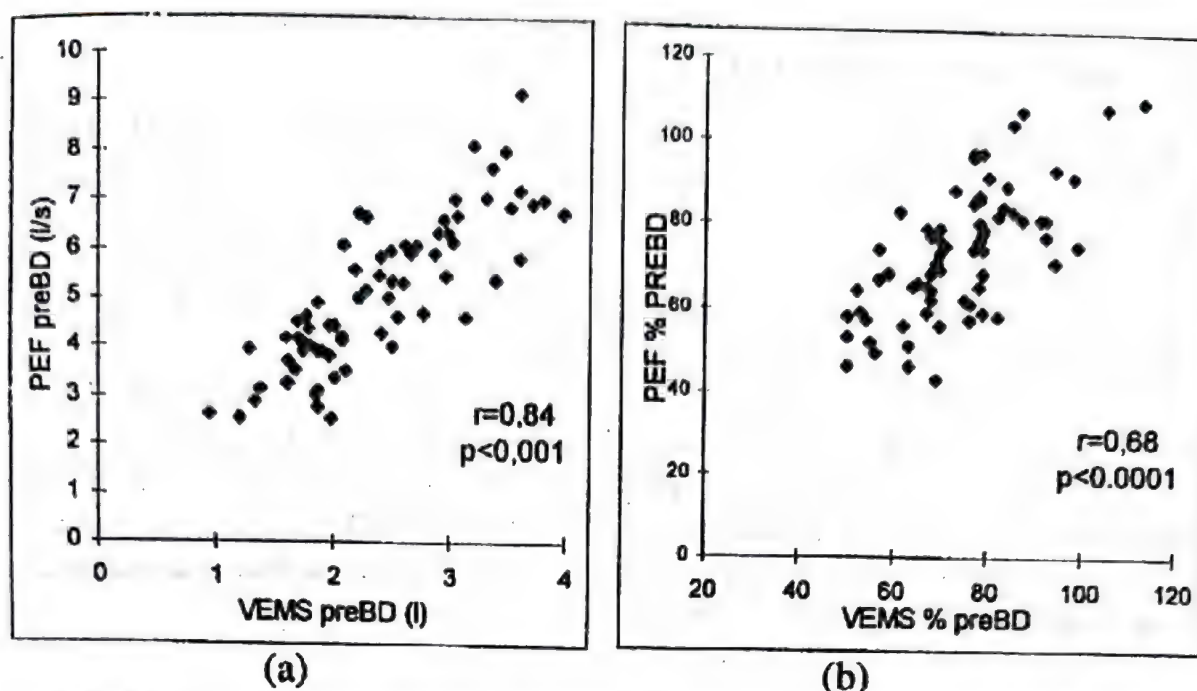


Fig. 8.8 – Corelația între valoarea absolută (a) și procentuală (b) a VEMS și PEF (n=73)

Urmărind concordanța între valoarea procentuală preBD a VEMS și PEF pe întreg lotul de testări, s-au evidențiat:

- la 19,17% (14/73 testări) valori bazale ale VEMS și PEF preBD peste 80% din prezis, valoare considerată limita de jos a variației fiziologice. În nouă cazuri, erau rezultate ale testelor unor astmatici cu obstrucție distală, la care valorile bazale ale VEMS și PEF > 80% sunt caracteristice. În cinci cazuri, erau rezultate ale testelor unor astmatici cu răspuns inițial negativ la testul de bronhodilație, care au urmat tratament cortizonic timp de șapte zile, după care s-a obținut o reversibilitate bună a obstrucției bronșice, evidențiable atât prin normalizarea VEMS-ului cât și a PEF-ului. La aceste cazuri nu a mai fost necesar testul de bronhodilație;

- într-un procent de 13,69% (10/72 teste), valoarea PEF preBD a fost de peste 80% din valoarea prezisă, în condițiile în care VEMS-ul preBD era sub 80% din prezis. Din cele 10 cazuri, șase au fost încadrate pe baza modificării VEMS-ului în lotul BD+ și patru în lotul BD+CSO. Dacă s-ar lua în calcul numai valoarea PEF preBD, astfel de cazuri ar fi pierdute din vedere. Subestimarea lor ar duce la încadrări de diagnostic greșite și la o conduită terapeutică neadecvată. Subestimarea ar fi și mai gravă la cele patru cazuri care au necesitat terapie cortizonică pentru restabilirea unui răspuns bronhodilatator adecvat la  $\beta_2$ -agoniști;

- într-un procent de 5,47% (4/73 teste), valoarea PEF preBD a fost sub 80% din valoarea prezisă, în condițiile în care VEMS preBD era peste 80% din prezis. Cele trei cazuri aparțineau lotului de astmatici cu obstrucție distală. Această situație



reflectă posibilitatea de supraestimare a gradului de obstrucție bronșică, dacă se ia în considerare numai valoarea PEF;

● într-un procent de 61,64% (45/73 teste), valorile VEMS și PEF preBD au fost sub 80% din valoarea prezisă, fiind o reflectare tipică a disfuncției ventilatorii obstructive.

Pornind de la limita valorii normale, de 80% din prezis, concordanța între cei doi parametri – respectiv valori scăzute sau crescute concordant – s-a obținut într-un procent semnificativ de 80,82% (59/73 teste).

Pentru studiul responsivității bronșice, s-au apreciat modificările valorii VEMS și PEF la subgrupurile care au efectuat testul de bronhodilatație: BD+ (34 determinări), BD- (13 determinări), BD+CSO (8 determinări), totalizând 55 de determinări (vezi tabelele 2 și 3). La cinci cazuri din lotul BD+CSO, valorile bazale ale parametrilor investigați au fost mai mari de 80%, făcând inutilă practicarea testului de bronhodilatație.

*a) Rezultatele la toate cazurile cu test de bronhodilatație (n = 55)*

Rezultatele obținute pentru cele 55 de probe efectuate relevă:

■ între valorile bazale ale celor doi parametri, VEMS preBD și PEF preBD:

- comparând valorile lor absolute, s-a evidențiat o corelație directă puternică ( $r = 0,81$ ) (tabelul nr. 2).
- comparând valorile lor procentuale față de prezis, s-a evidențiat o corelație de intensitate mijlocie ( $r = 0,60$ ).

Tabel nr. 2

Valorile absolute ale VEMS și PEF, modificarea lor postBD (media și SD), coeficientul de corelație și semnificația statistică

Parametrii corelați	Toate cazurile cu test BD (n = 55)	Cazuri BD+ și BD+CSO (n = 42)	Cazuri BD- (n = 13)
VEMS preBD (l) – PEF preBD (l/s)	2,21 ± 0,66 l 4,73 ± 1,32 l/s $r = 0,81$ ; $p < 0,0001$	2,26 ± 0,67 l 4,83 ± 1,41 l/s $r = 0,81$ ; $p < 0,0001$	2,07 ± 0,64 l 4,39 ± 0,93 l/s $r = 0,79$ ; $p < 0,01$
VEMS postBD(l) – PEF postBD (l/s)	2,58 ± 0,78 l 5,39 ± 1,58 l/s $r = 0,82$ ; $p < 0,0001$	2,70 ± 0,75 l 5,67 ± 1,58 l/s $r = 0,78$ ; $p < 0,0001$	2,16 ± 0,77 l 4,49 ± 1,25 l/s $r = 0,82$ ; $p < 0,0001$
VEMS preBD (l) – VEMS post BD (l)	$p < 0,01$	$p < 0,001$	$p > 0,05$
PEF preBD (l/s) – PEF postBD (l/s)	$p < 0,0001$	$p < 0,05$	$p > 0,05$

■ valorile obținute în urma testului de bronhodilatare pentru VEMS postBD și PEF postBD au evidențiat:

- compararea valorilor absolute și procentuale față de prezis, a relevat o corelație directă puternică ( $r = 0,82$ , respectiv  $0,73$ ) (tabelul nr. 2)
- la administrarea  $\beta_2$ -agonistului, s-au obținut modificări ale VEMS și PEF (% modif), caracterizate printr-o corelație puternică ( $r = 0,77$ ;  $p < 0,0001$ ).

Dacă se compară valorile preBD cu cele postBD ale fiecărui parametru, se constată o bună reversibilitate a obstrucției bronșice, evidențiată prin:

- compararea valorilor absolute și a celor procentuale ale VEMS preBD cu cele postBD, se obține o diferență extrem de semnificativă ( $p < 0,0001$ ) (tabelul nr. 2);
- compararea valorilor absolute și a celor procentuale ale PEF preBD cu cele post BD, diferența este foarte semnificativă ( $p < 0,01$ ) (tabelul nr. 2).

#### *b) Rezultatele la cazurile cu răspuns BD pozitiv*

Rezultatele obținute la cazurile cu răspuns BD pozitiv ( $n = 42$ ), relevă date similare cu cele obținute pe întreg lotul: o corelație directă strânsă între VEMS preBD și PEF preBD, în valori absolute ( $r = 0,81$ ) și moderată, când se compară valorile procentuale ( $r = 0,61$ ). VEMS postBD se corelează puternic cu PEF postBD, atât ca valoare absolută ( $r = 0,78$ ), cât și procentuală ( $r = 0,72$ ). Modificarea procentuală indusă de administrarea  $\beta_2$ -agonistului se caracterizează printr-o corelație puternică între VEMS %modif și valoarea corespondentă a PEF %modif ( $r = 0,72$ ,  $p < 0,0001$ ).

Dacă se compară valorile preBD cu cele postBD ale fiecărui parametru se constată că responsivitatea la testul de bronhodilatație induce modificări statistic semnificative atât pentru VEMS cât și pentru PEF ( $p < 0,001$ ) (tabelul nr. 2).

#### *c) Rezultatele la cazurile cu răspuns BD negativ*

Rezultatele obținute la cazurile cu răspuns BD negativ ( $n = 13$ ), relevă variații nesemnificative ale VEMS și PEF și modificări reduse la testul de bronhodilatație, atât în valoare absolută, cât și procentuală față de prezis (VEMS %modif de  $1,53 \pm 5,84\%$ , respectiv PEF %modif de  $3,61 \pm 9,49\%$ ). Datorită reflectării aceluiasi răspuns bronhodilatator redus de către ambii parametri corelația dintre VEMS %modif și PEF %modif corespondent este păstrată ( $r = 0,60$ ,  $p < 0,05$ ) (tabelul nr. 2).

#### ● *Modificarea procentuală a VEMS și PEF la testul de bronhodilatație*

Pentru a stabili mai exact dacă VEMS și PEF reflectă în mod similar gradul de responsivitate bronșică la administrarea  $\beta_2$ -agoniștilor, s-au separat rezultatele testelor ventilometrice în funcție de valoarea considerată semnificativă pentru un test BD+, respectiv o creștere a VEMS sau PEF mai mare sau egală cu 15% față de valorile bazale. S-au obținut patru grupe de rezultate ale testului de bronhodilatație:





- un grup cu valoare VEMS %modif  $\geq 15\%$  și PEF %modif  $\geq 15\%$ . Este grupul cu cea mai mare pondere, 58,18% (32/55 teste), cel ai pacienților cu test BD+ reflectat în aceeași măsură de modificarea ambilor parametri;

- un grup cu valoare VEMS %modif  $< 15\%$  și PEF %modif  $< 15\%$ , într-o proporție de 18,18% (10/55 teste). Este grupul cu test BD– reflectat în aceeași măsură de modificarea ambilor parametri;

- un grup cu valoarea VEMS %modif  $\geq 15\%$  și PEF %modif  $< 15\%$ , într-o proporție de 18,18% (10/55 teste). Este grupul cu test BD+ reflectat prin creșterea VEMS-ului dar nesuștinut și de modificarea PEF. Acest grup atestă posibilitatea unor aprecieri eronate asupra responsivității bronhomotorii, respectiv de subestimare a răspunsului la  $\beta_2$ -agoniști, dacă se recurge la determinarea unilaterală a PEF;

- un grup cu valoarea VEMS %modif  $< 15\%$  și PEF %modif  $\geq 15\%$ , într-o proporție de 5,45% (3/55 teste). Este grupul cu test BD– reflectat de modificarea nesemnificativă a VEMS-ului, dar cu o creștere semnificativă a PEF. Și în cazul acestui grup se evidențiază posibilitatea unor aprecieri eronate asupra responsivității bronhomotorii, respectiv de supraestimare a răspunsului la  $\beta_2$ -agoniști, dacă se determină unilateral PEF-ul.

## 2. Corelația VEMS și PEF cu debitele expiratorii medii ( $FEF_{x\%}$ )

Pe lotul de astmatici luat în studiu, s-a urmărit corelația între VEMS și PEF, considerați parametri standard pentru obstrucția bronșică și debitele medii expiratorii maxime ( $FEF_{x\%}$ ) și între acești parametri de pe curba flux-volum și Raw și sGaw, obținute prin pletismografie computerizată. Responsivitatea bronșică reflectată prin variația procentuală a debitelor medii expiratorii maxime la testul de bronhodilatație este redată în figura 8/9.

### ● Corelația $FEF_{25\%-75\%}$ cu VEMS și PEF

La lotul de 73 de testări, corelația între  $FEF_{25\%-75\%}$  și VEMS este puternică, dacă se iau în considerare valorile absolute ( $FEF_{25\%-75\%} = 1,86 \pm 1,02$  l/s) ( $r = 0,75$ ;  $p < 0,0001$ ) și de intensitate medie, dacă se iau în considerare valorile procentuale față de prezis ( $FEF_{25\%-75\%} = 53,36\% \pm 25,48\%$ ) ( $r = 0,67$ ;  $p < 0,0001$ ).

Corelația între  $FEF_{25\%-75\%}$  și PEF este similară cu VEMS-ul: puternică, dacă se iau în considerare valorile absolute ( $r = 0,71$ ;  $p < 0,0001$ ) și de intensitate medie, dacă se iau în considerare valorile procentuale față de prezis ( $r = 0,68$ ;  $p < 0,01$ ). Corelația între valorile absolute ale  $FEF_{25\%-75\%}$ , pe de-o parte, și VEMS sau PEF, pe de altă parte, se menține și pe subgrupe: lot cu test de bronhodilatație ( $n = 55$ ); lot BD+ ( $n = 42$ ) și lot BD– ( $n = 13$ ).

La lotul cu test de bronhodilatație și lotul BD+ se constată o corelație mai bună între valorile procentuale ale  $FEF_{25\%-75\%}$  și VEMS față de cele absolute și invers, o

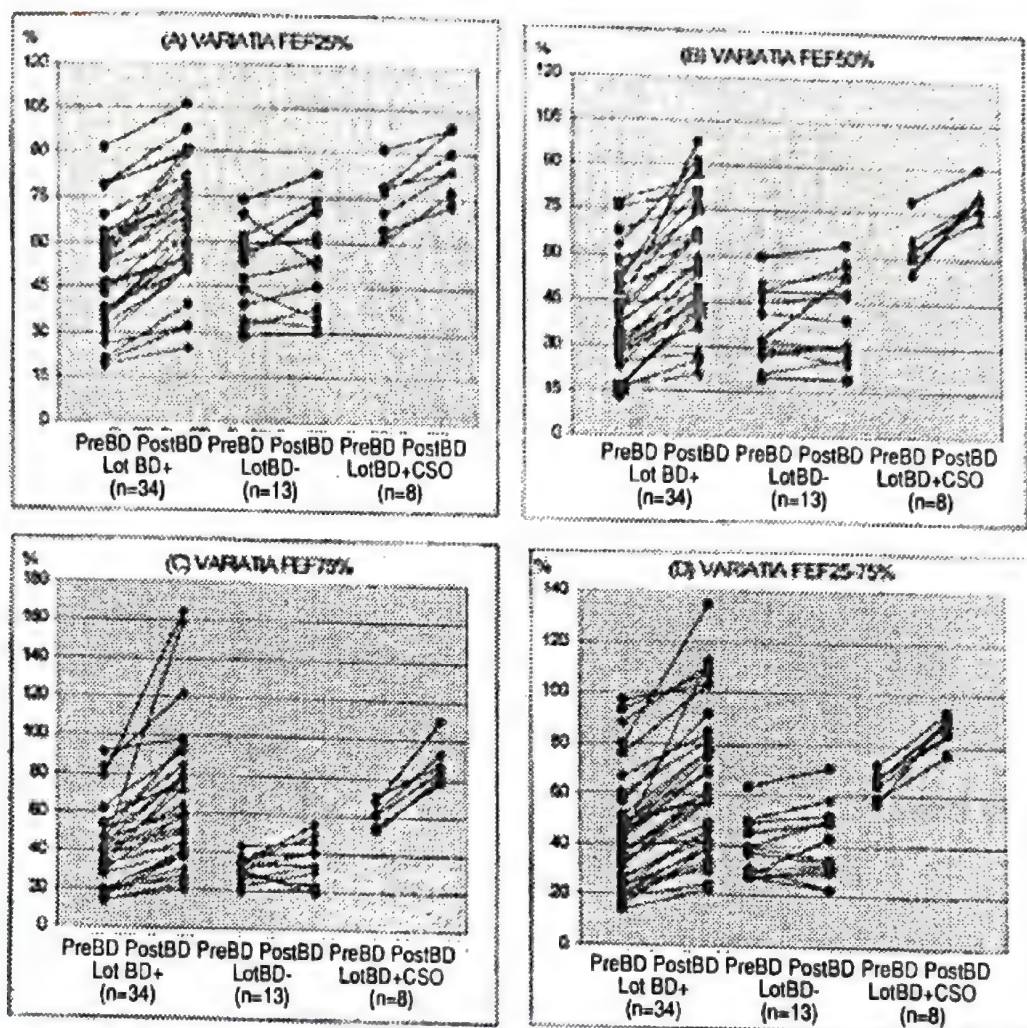


Fig. 8.9 – Responsivitatea bronșică reflectată prin variația procentuală a debitelor medii expiratorii maxime la testul de bronhodilație, la lotul de astmatici cu DVO (preBD: valori înainte de bronhodilatator; postBD: valori la 10 minute după bronhodilatator)

corelație mai bună între valorile absolute ale  $FEF_{25\%-75\%}$  și PEF față de cele procentuale. Corelația este mai puternică între valorile post BD ale celor trei parametri ( $r = 0,75$ , respectiv  $r = 0,71$ ).  $FEF_{25\%-75\%} \%modif$  se corelează mai puternic cu VEMS  $\%modif$  ( $r = 0,75$ ) (fig. 8/10) și moderat cu PEF  $\%modif$  ( $r = 0,66$ ).

#### ● Corelația $FEF_{x\%}$ cu VEMS și PEF

Valoarea debitelor expiratorii maxime instantanee este dependentă de rezistența la flux dezvoltată în căile aerifere mici, de refulul elastic pulmonar și de volumul pulmonar. Aceste debite sunt considerate indicatori precoce ai obstrucției bronșice distale, chiar în condițiile menținerii VEMS-ului în limitele normale.



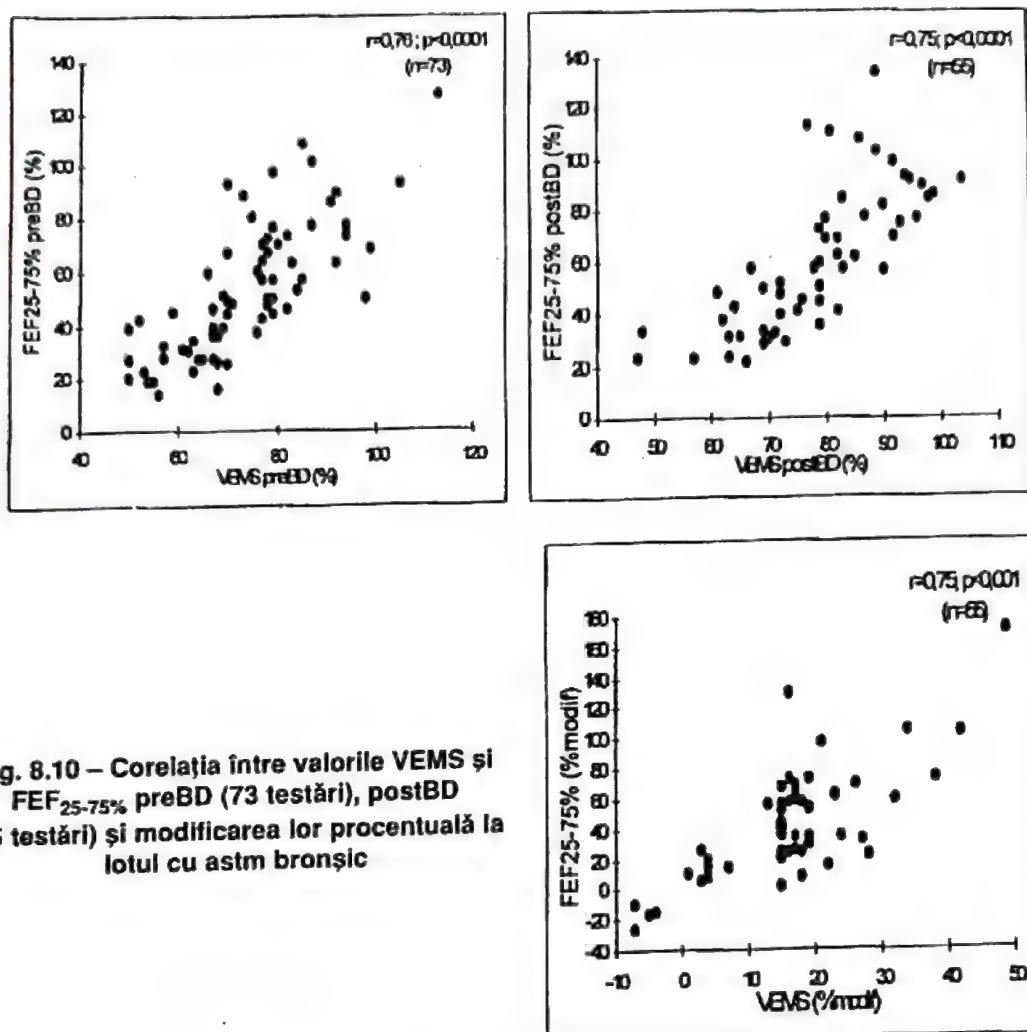


Fig. 8.10 – Corelația între valorile VEMS și FEF<sub>25-75%</sub> preBD (73 testări), postBD (55 testări) și modificarea lor procentuală la lotul cu astm bronșic

La lotul de astmatici investigat, determinarea acestor parametri a permis obiectivarea sindromului obstructiv distal în 13 cazuri (21,66%), la care valoarea VEMS, PEF și Raw era în limite normale.

Corelația între valorile inițiale ale FEF<sub>x%</sub> cu VEMS și PEF la întreg lotul de testări ( $n = 73$ ), evidențiază valori apropiate pentru FEF<sub>50%</sub> și FEF<sub>75%</sub>. În cazul FEF<sub>25%</sub>, parametrul înregistrat în prima parte a curbei expirografice, la volume pulmonare mari, corelația cu VEMS și PEF este cea mai puternică ( $r = 0,74$ ).

Urmărind reflectarea responsivității bronhomotorii la testul de bronhodilatație ( $n = 55$ ) prin modificarea FEF<sub>x%</sub> în comparație cu reflectarea sa prin modificarea VEMS, se evidențiază o corelație bună în cazul tuturor debitelor medii (tabelul nr. 3).

Corelația între modificarea procentuală a VEMS și a FEF<sub>50%</sub> este cea mai puternică ( $r = 0,77$ ) și este apropiată de corelația între VEMS modif% cu FEF<sub>25-75%</sub> modif% ( $r = 0,75$ ) și respectiv cu PEF modif% ( $r = 0,79$ ).

**Tabelul nr. 3.**

**Corelația  $FEF_{x\%}$  modif% cu modificarea VEMS, PEF, Raw, Gaw și sGaw la testul de bronhodilatație (n = 55)**

$FEF_{x\%}$ modif%	corelația cu VEMS modif%	corelația cu PEF modif%	corelația cu Raw modif%	corelația cu Gaw modif%	corelația cu sGaw modif%
$FEF_{25-75\%}$ modif%	$r = 0,75$	$r = 0,66$	$r = 0,80$	$r = 0,45$	$r = 0,53$
$FEF_{75\%}$ modif %	$r = 0,60$	$r = 0,51$	$r = 0,70$	$r = 0,42$	$r = 0,47$
$FEF_{50\%}$ modif%	$r = 0,77$	$r = 0,65$	$r = 0,70$	$r = 0,38$	$r = 0,55$
$FEF_{25\%}$ modif%	$r = 0,65$	$r = 0,53$	$r = 0,76$	$r = 0,47$	$r = 0,49$

Dacă modificarea VEMS-ului postBD se consideră standardul, modificările PEF,  $FEF_{50\%}$  și  $FEF_{25-75\%}$  postBD pot fi considerate indicatorii cei mai fideli ai răspunsului bronhomotor, obținuți pe curba flux-volum.

● **Corelația  $FEF_{25-75\%}$  cu  $FEF_{75\%}$ ,  $FEF_{50\%}$  și  $FEF_{25\%}$**

Corelația între valorile inițiale ale  $FEF_{25-75\%}$  și  $FEF_{x\%}$  este puternică, atingând cea mai mare valoare pentru debitele expiratorii înregistrate în cea de-a doua parte a curbei expirografice, respectiv  $FEF_{75\%}$  și  $FEF_{50\%}$  ( $r = 0,91$ ), în timp ce pentru  $FEF_{25\%}$  este de 0,83.

Reflectarea răspunsului la testul de bronhodilatație prin modificarea valorii debitelor expiratorii maxime instantanee este apropiată. Corelația între modificarea procentuală a  $FEF_{25-75\%}$  și  $FEF_{50\%}$  este cea mai puternică ( $r = 0,75$ ). Corelația între modificarea procentuală a  $FEF_{25-75\%}$  și  $FEF_{75\%}$  este de asemenea puternică ( $r = 0,73$ ) iar corelația cu  $FEF_{25\%}$  este moderată ( $r = 0,61$ ).

**3. Corelația Raw și sGaw determinate pletismografic cu VEMS, PEF,  $FEF_{x\%}$  (principalii parametri de pe curba flux-volum)**

Urmărind valorile Raw și a celor trei parametri principali de pe curba flux-volum (VEMS, PEF,  $FEF_{25-75\%}$ ), la cele 73 de testări, se constată lipsa unei corelații ale Raw preBD cu valorile corespondente ale VEMS preBD, PEF preBD și  $FEF_{25-75\%}$ .

Din totalul de teste în care s-a obiectivat prezența obstrucției bronșice, numai în 33 de cazuri valoarea inițială a Raw a fost crescută. În toate aceste cazuri cu Raw inițial crescut, scăderea indusă la testul de bronhodilatație (Raw postBD) se corelează cu creșterea postBD a celor trei parametri principali de pe curba flux-volum, fapt evidențiat printr-un indice de corelație inversă moderată, conform tabelului nr 4.

Răspunsul bronhodilatator se reflectă semnificativ și prin modificarea procentuală a Raw față de valoarea inițială (Raw %modif). Între modificarea procentuală a Raw față de valoarea inițială și modificarea față de valoarea inițială (%modif) a VEMS, PEF și  $FEF_{25-75\%}$  s-a evidențiat o corelație puternică inversă



(fig. 8/11). De asemenea, modificarea Raw se corelează puternic cu celelalte  $FEF_{x\%}$ , cu valori ale indicelui de corelație între 0,70 și 0,76.

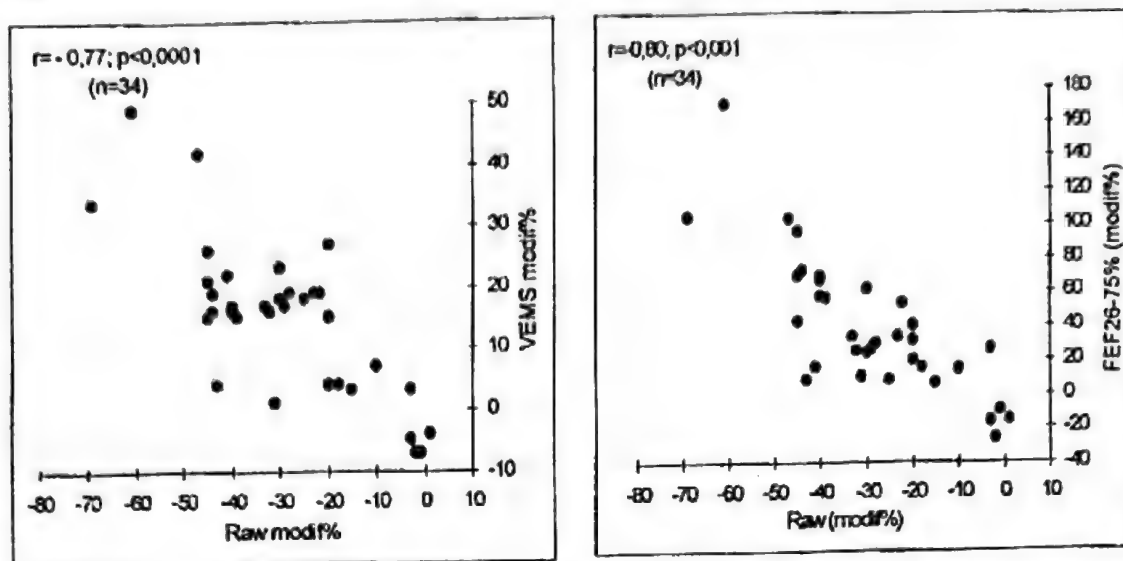


Fig. 8.11 – Responsivitatea bronhomotorie reflectată prin corelația între modificarea procentuală indusă de  $\beta_2$ -agoniști asupra Raw, VEMS și  $FEF_{25-75\%}$  la lotul cu astm bronșic și Raw inițial crescut

Între Raw și sGaw se constată o corelație inversă, mai puternică în cazul valorilor inițiale preBD ( $r = -0,76$ ), respectiv creșterea Raw se însoțește de scăderea corespunzătoare a sGaw în toate cele 33 de cazuri de Raw crescut. Cu toate că cei doi parametri pletismografici se corelează, nu se înregistrează o corelație semnificativă a sGaw cu cei trei parametri principali de pe curba flux-volum, care să justifice includerea sa între parametrii de primă linie în aprecierea obstrucției bronșice și a gradului de responsivitate la testele de bronhodilație (tabelul nr. 4).

Tabel nr. 4

Corelația Raw cu VEMS, PEF,  $FEF_{25-75\%}$  și sGaw

VALOARE Raw	CORELAȚII CU ALȚI PARAMETRI			
Raw preBD ( $126,52 \pm 66,23\%$ ) (n = 73)	VEMS preBD $r = 0,36$	PEF preBD $r = -0,34$	$FEF_{25-75\%}$ preBD $r = -0,36$	sGaw preBD $r = 0,76$
Raw post BD ( $129,29 \pm 42,91\%$ ) (n = 33)	VEMS preBD $r = -0,66$	PEF preBD $r = -0,55$	$FEF_{25-75\%}$ postBD $r = -0,65$	sGaw preBD $r = -0,57$
Raw %modif ( $-29,58 \pm 17,20\%$ ) (n = 33)	VEMS %modif $r = -0,77$	PEF %modif $r = -0,73$	$FEF_{25-75\%}$ %modif $r = -0,80$	sGaw % modif $r = -0,62$

## DISCUȚII

### ● *Corelația VEMS-PEF în aprecierea gradului de obstrucție bronșică și/sau a responsivității bronșice*

Prezența obstrucției bronșice este atestată, în mod curent, de reducerea VEMS-ului și a PEF-ului. Punerea la punct a unor aparate ușor de manevrat, ieftine și accesibile, respectiv a mini peak flow-meterelor portabile, a făcut din determinarea PEF-ului o metodă facilă de evaluare a calibrului bronșic și a răspunsului la terapia bronhodilatatoare (HARGREAVE F.E., 1990, DEKKER F. V., 1992, MADAMA V. C., 1993, CAUTRIN D., 1994, GOLD W. M., 1994). Începând cu anii '70, această metodă a devenit un test screening, de monitorizare a obstrucției căilor respiratorii și a reversibilității sale. Larga utilizare a monitorizării PEF-ului se bazează pe rezultatele unor studii care atestă o bună corelație între VEMS și PEF la pacienții astmatici, cu un coeficient de corelație variind între 0,8 și 0,89 (CONNELLY C. K., 1987, KELLY C., 1988, MELTYER C., 1989, VAUGHAN T., 1989, GAUTRIN D., 1994). Buna corelație între VEMS și PEF se reflectă și la lotul investigat, printr-un indice de corelație înaltă ( $r = 0,84$ ;  $p < 0,001$ ).

O serie de autori au ridicat problema unei posibile discordanțe între modificările VEMS-ului și PEF-ului, care ar putea duce la interpretări eronate (BERUBE D., 1991, GAUTRIN D., 1994). Modificările VEMS-ului pot fi subestimate și mai rar supraestimate, comparativ cu modificările PEF-ului.

Rezultatele obținute relevă o bună corelație între valoarea VEMS și PEF și între modificarea lor procentuală, ca indicatori ai responsivității bronșice în urma testului de bronhodilație. Corelarea lor este importantă atunci când:

- se evaluează gradul de obstrucție bronșică, interesând reducerea procentuală a valorii celor doi parametri, față de valorile prezise;
- se evaluează gradul de responsivitate bronșică, interesând creșterea valorii parametrilor și modificarea procentuală față de valorile bazale, considerată semnificativă când  $\geq 15\%$ ;
- se evaluează eficiența terapeutică, în cazul de față, răspunsul la  $\beta_2$ -agoniști după corticoterapie, la cazurile care la prima evaluare nu au răspuns la testul de bronhodilație.

Posibilitățile de estimare greșită a severității obstrucției bronșice și/sau a responsivității la BD includ, așa cum s-a evidențiat mai sus, fie valori disproporționate ale PEF-ului bazal față de cele ale VEMS-ului, fie modificări procentuale disproporționate ale PEF-ului față de VEMS ca răspuns la testul de bronhodilație:

- în cazul unor valori reduse ale PEF preBD, nesusținute și de valori concordante ale VEMS preBD, obstrucția bronșică poate fi supraevaluată și invers, în



cazul unor valori în limite fiziologice ale PEF preBD dar cu VEMS preBD < 80% din valoarea prezisă, obstrucția poate fi subevaluată;

- modificarea PEF  $\geq 15\%$  la testul de bronhodilație, nesusținută de creșterea VEMS duce la supraevaluarea responsivității bronhomotorii și, în final, la atitudini terapeutice inadecvate, în timp ce o modificare a PEF mai mică de 15%, în condițiile unei modificări a VEMS de peste 15%, ar subevalua responsivitatea bronhomotorie, dacă ar fi singurul parametru luat în considerare. În această situație, s-ar putea trece la o modificare a terapiei care, de fapt, este inutilă.

Datele obținute vin în sprijinul susținerii supremației VEMS-ului ca parametrul cel mai sensibil și reproductibil pentru aprecierea obstrucției bronșice și a responsivității bronhomotorii. ENRIGHT P. și colab., 1991 și 1994 consideră determinarea VEMS-ului ca „standardul de aur” și îl consideră de neînlocuit în urmărirea obstrucției bronșice, datorită gradului mai mic de variabilitate individuală.

O explicație a diferenței între modificarea procentuală a VEMS-ului și a PEF-ului corespondent, ca răspuns la testul de bronhodilație al astmaticilor, ține strict de mecanismele fiziologice: VEMS-ul reflectă atât calibrul căilor respiratorii proximale, cât și periferice (a căror îngustare este caracteristică în astmul bronșic), în timp ce PEF-ul reflectă calibrul căilor respiratorii proximale (KNUDSON R. D., 1983, NUNN A. J., 1989).

Practica monitorizării subiecților astmatici prin PEF este destul de frecventă, datorită simplității de efectuare practică a manevrelor, atât în spital, cât și la domiciliu (HIGGINS B., SHAPIRO S., 1991). Simpla scădere a PEF  $\geq 15\%$ , nu poate fi considerată ca unic indicator de modificare a tratamentului, după cum menținerea relativ constantă a PEF nu poate atesta, în mod absolut, eficiența tratamentului (SHAPIRO S., 1991, MADAMA V. C. și GAUTRIN D., 1993, ENRIGHT P., 1994). Măsurarea calibrului căilor respiratorii nu este singurul parametru utilizat în controlul astmului, ci în asociere cu o serie de parametri clinici: frecvența și intensitatea simptomelor diurne și/sau nocturne, toleranța la efort, necesarul de  $\beta_2$ -agoniști (BREVIS R., 1991).

În prezent se testează eficiența unor sisteme portabile, care măsoară nu numai PEF-ul ci și VEMS-ul. Aceste sisteme ar putea oferi o mai corectă monitorizare a variabilității obstrucției bronșice, la domiciliu (GAUTRIN D., 1993).

European Respiratory Society și American Medical Association recomandă efectuarea spirometriei pentru stabilirea statusului bazal al pacienților cu afecțiuni respiratorii obstructive și consideră VEMS-ul cel mai reproductibil parametru ventilometric. Valoarea VEMS variază invers și liniar cu gradul de obstrucție bronșică atât la pacienții astmatici cât și la cei cu BPOC. VEMS-ul este un indicator mult mai sensibil al obstrucției bronșice față de scorul clinic și datele obținute la examenul clinic: chiar pacienții astmatici cu un scor clinic de 2–3, au prezentat în proporție de 8,33% un VEMS < 80%.

*b) Corelația VEMS și PEF cu  $FEF_{25\%-75\%}$ , Raw și sGaw în aprecierea gradului de obstrucție bronșică și a responsivității bronșice*

Debitele de aer măsurate la volume mari sunt indicatori mai puțin sensibili pentru funcția căilor respiratorii mici, deoarece depind de intensitatea efortului depus de subiect (RHODES M. L., 1987, MADAMA V. C., 1993, GOLD W. M., 1994, DUȚU ȘT., 1997). PEF-ul corespunde porțiunii inițiale a manevrei expiratorii, cea mai puternic influențată de intensitatea efortului, astfel încât, valoarea redusă a PEF reflectă mai repede un efort submaximal decât prezența unei obstrucții bronșice (GOLD W. M., 1994). În efortul expirator maximal, fluxul de aer depinde de calibrul căilor respiratorii mari și este influențat de compresia aerului din căile respiratorii centrale. Datorită acestui fapt, reducerea semnificativă a PEF-ului este o caracteristică a obstrucțiilor moderate/severe și apare rar în obstrucțiile ușoare (RUPPEL G., 1994, GOLD W. M., 1994).

Debitele expiratorii medii, măsurate la volume mici de aer, mai ales  $FEF_{25\%-75\%}$ , sunt mai puțin dependente de intensitatea efortului depus de subiect. Acești parametri reflectă porțiunea intermediară și finală a manevrei expiratorii, cea mai puțin influențată de intensitatea efortului. Valoarea  $FEF_{25\%-75\%}$  este dependentă de geometria și funcția căilor respiratorii, fiind un indicator al funcției căilor respiratorii periferice, locul unde se consideră că încep afecțiunile obstructive cronice (RHODES M. L., 1987, GOLD W. M., 1994, KELLER C. A., 1995, BADIÉ M., 1995). Reducerea sa, în condițiile menținerii unui VEMS și Raw în limite normale, este o caracteristică a obstrucției bronșice distale (MADAMA V. C., 1993, GOLD W. M., 1994, DUȚU ȘT., 1997). Valoarea  $FEF_{25\%-75\%}$  prezintă mari variații interindividuale iar intervalul de confidență 95% pentru valori normale este larg, ceea ce face ca sensibilitatea metodei în decelarea obstrucției bronșice să fie redusă. RUPPEL G., 1994 și GOLD W. M., 1994 consideră că limita inferioară a valorii normale a  $FEF_{25\%-75\%}$  este de 65% din prezis. La lotul investigat, valoarea  $FEF_{25\%-75\%}$  se corelează puternic cu valoarea VEMS-ului ( $r = 0,75$ ;  $p < 0,0001$ ) și a PEF-ului ( $r = 0,71$ ;  $p < 0,0001$ ). Față de celelalte debite expiratorii medii,  $FEF_{25\%-75\%}$  poate fi considerat cel mai fidel parametru în aprecierea obstrucției bronșice distale.

În obstrucțiile bronșice distale incipiente, valoarea Raw este în limite normale. În evoluția astmului bronșic, odată cu instalarea unei obstrucții bronșice importante, valoarea Raw poate fi crescută, de două până la trei ori față de valorile normale, chiar în formele stabilizate de boală. În aceste condiții, creșterea Raw poate fi considerată un indicator al obstrucției bronșice (BUNU C., 1994, 1995, SCHNEIDER F., 1995, 1996, DUȚU ȘT., 1997) și după MADAMA (1994) un indicator al severității afecțiunii.

La lotul de astmatici studiat, dacă se raportează aprecierea severității obstrucției bronșice prin scăderea VEMS-ului, la aprecierea sa prin creșterea Raw,



se constată o reflectare similară în 29 de cazuri (48,33%) și diferită în 31 de cazuri (51,66%) (dintre care, în 19 cazuri, valoarea Raw era în limite normale, în condițiile unei valori scăzute a VEMS <80%). Datele relevă că valoarea Raw nu poate fi luată în considerare ca indicator singular al gradului de obstrucție bronșică, ci numai prin coroborarea sa cu valoarea altor parametri. Datorită faptului că porțiunile distale a arborelui bronșic îi revine un rol redus în geneza rezistenței la flux (10–12%), este posibilă dezvoltarea unui grad considerabil de obstrucție la acest nivel, fără o reflectare semnificativă în valoarea Raw (PATTON H. D., 1989, SELCURT E. E., 1989, SCHNEIDER F., 1995, 1996, DUȚU ȘT. 1997).

Modificarea Raw la testul de bronhodilatație (scăderea Raw  $\geq 40\%$ ), este considerată relevantă pentru o reversibilitate bună a obstrucției bronșice, respectiv un indicator indirect al participării contracției mușchiului neted la reducerea calibrului căilor aerifere (RHODES M. L., 1987, SCHNEIDER F., 1995, 1996, DUȚU ȘT., 1997). La lotul investigat, testul pozitiv la bronhodilatatorul inhalator, reflectat prin creșterea VEMS  $\geq 15\%$  a fost reflectat și de scăderea Raw  $\geq 40\%$ , în toate cazurile. Într-un singur caz, scăderea Raw  $\geq 40\%$  nu a fost reflectată și de creșterea corespunzătoare a VEMS-ului, testul fiind apreciat ca negativ. Pe baza studiilor sale pe un lot de 148 de pacienți astmatici simptomatici, DUȚU (1997) consideră că deși parametrul cel mai frecvent utilizat în aprecierea responsivității bronhomotorii este VEMS-ul, modificarea Raw ar fi mai sensibilă. Argumentarea acestei concluzii se bazează pe faptul că testele care reflectă cel mai fidel răspunsul bronhodilatator sunt cele influențate mai ales de creșterea calibrului căilor aerifere mari și mijlocii, în care spasmul musculaturii netede bronșice induce un efect important asupra celorlalți factori care contribuie la îngustarea lumenului ductelor aerifere – respectiv edemul, infiltrația mucoasei și submucoasei cu celule inflamatorii și hipersecreția de mucus. Pe de altă parte, DUȚU (1997) consideră că parametri ventilometrici influențați, în principal, de curgerea aerului prin segmentul distal al arborelui traheo-bronșic sunt indicatori mai puțin sensibili la testul de bronhodilatație. Argumentul în favoarea acestui considerent se bazează pe faptul că în căile aerifere cu diametrul mai mic de 2 mm, efectul agenților bronhodilatatori este mult mai redus, deoarece chiar dacă spasmul musculaturii netede bronșice cedează, calibrul lor rămâne redus datorită hipersecreției de mucus de către celulele calciforme (al căror număr crește la acest nivel în condiții patologice) edemului mucoasei și congestiei capilare.

Sunt studii care consideră că există o corelație semnificativă între diametrul bronhiolar mediu și sGaw, care permite decelarea precoce a obstrucției bronșice, chiar înaintea scăderii VEMS-ului și că sGaw se corelează cu FEF<sub>25-75%</sub> (NIEWOCHNER D.E., 1974, HOPPIN F. G., 1978, VAN BRABANDT A., 1983, BASSINI A.G., 1997). Rezultatele studiilor noastre nu au relevat o bună corelație între valorile bazale ale sGaw și FEF<sub>25-75%</sub>. Urmărind valorile Raw și sGaw la lotul

cu răspuns BD+ și cel BD-, se evidențiază că Raw și sGaw se corelează, ca indicatori ai prezenței obstrucției bronșice inițiale, respectiv creșterea Raw se însoțește de scăderea corespunzătoare a sGaw în toate cazurile. Dacă pentru valorile Raw la cele două loturi, nu sunt diferențe semnificative, pentru valorile sGaw, diferențele au fost statistic semnificative ( $p < 0,1$ ). Rezultatele arată că scăderea mai importantă a sGaw reflectă un grad de obstrucție mai important și o responsivitate bronhomotorie diminuată. În plus, la analiza sGaw, s-a constatat o diferență marginal semnificativă ( $p < 0,5$ ) între valoarea sa la loturile cu „aer captiv” cu răspuns bronhodilatator pozitiv față de cel cu răspuns negativ. Și în acest caz, sGaw se dovedește, indirect, mai sensibil decât Raw în reflectarea gradului de obstrucție bronșică și a nivelului de alterare a responsivității bronșice.

## CONCLUZII

Aprecierea severității astmului bronșic cuprinde două dimensiuni, care nu sunt întotdeauna corelate:

- *funcția bazală* – apreciază statusul curent al pacientului și este în relație directă cu gradul de obstrucție bronșică;
- *labilitatea bolii* – apreciază reactivitatea, responsivitatea și potențialul pentru frecvența exacerbărilor (ENRIGHT P., 1994).

1. VEMS-ul este parametrul spirometric cel mai reproductibil în aprecierea funcției pulmonare în condiții bazale, pentru diagnosticul bolii și stabilirea severității ei (RHODES M. L., 1987, MADAMA V. C., 1993, GOLD W. M., 1994, RUPPEL G., 1994, DUȚU ȘT., 1997).
2. PEF-ul se corelează cu VEMS-ul, astfel încât poate fi utilizat ca parametru de apreciere a funcției pulmonare în condiții bazale și în monitorizarea ambulatorie a obstrucției bronșice, prin măsurarea variabilității sale.
3.  $FEF_{25\%-75\%}$  este parametrul spirometric care se modifică precoce în obstrucțiile bronșice distale, în condițiile în care valorile VEMS, PEF și Raw sunt în limite normale.
4. Raw și sGaw sunt în multe cazuri de astm bronșic stabilizat în limite normale (deși se pot înregistra creșteri de până la două-trei ori față de valorile normale), astfel încât nu pot fi considerați la fel de utili în aprecierea obstrucției bronșice, în condiții bazale.
5. Aprecierea responsivității bronșice prin testul de bronhodilație se reflectă în mod uzual prin modificarea VEMS-ului.
6. Corelația bună a modificării VEMS-ului cu modificările PEF,  $FEF_{25\%-75\%}$  și Raw relevă că și acești parametri pot fi utilizați în aprecierea gradului de responsivitate bronșică.



7. Gaw se corelează cu Raw, este un parametru sensibil în reflectarea gradului de obstrucție bronșică, dar nu se corelează cu parametri spirografici principali.
8. Rezultatele tuturor investigațiilor pulmonare se corelează semnificativ între ele, cu severitatea bolii și cu responsivitatea bronhomotorie. În lipsa unui „standard de aur” care să măsoare severitatea astmului bronșic, se recomandă efectuarea unei baterii cât mai largi de teste.
9. Avantajul determinării parametrilor pletismografici constă în ușurința de efectuare pentru pacient și în sensibilitatea metodei iar dezavantajul major este legat de necesarul de dotare care face din pletismografie o tehnică scumpă și pretențioasă.

## BIBLIOGRAFIE

1. DUȚU T., *Explorarea funcțională pulmonară*. Ed. Medicală, București, 1997.
2. ENRIGHT P. L., LEBOWITZ M. D., COCKROFT D. W., *Physiologic measures: Pulmonary function tests*. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1994, 149: S9–S18.
3. COCKFORT D.W., HARGREAVE F.E., *Airway hyperresponsiveness: definition, measurement, and clinical relevance in Asthma. Its pathology and treatment*. Eds. Kaliner M.A., Barnes P. J., Persson C.G.A., New York, Marcel Dekker, Inc. 1991: 51–72.
4. MIHALAȘ G., PETROIU A., DINU G., SCHNEIDER F., *Studiul reactivității bronșice prin teste de inhalare cu mediator colinergici*. In vol. al VII-lea Congr. Naț. de Fiziol., București, 1986: 152.
5. BARNES P. J., *New therapeutic approaches*. British Med. Bulletin, 1991, 48 (1): 231–247.
6. MIHALAȘ G., PETROIU A., TULEA E., MATEESCU R., SCHNEIDER F., *Studiul reactivității bronhomotorii nespecifice*. În vol. conf. de fiziol. „Reglarea sistemelor excitabile”, Craiova, 1990: 45.
7. BOULET L. P., DENJAN A., *Hyperreactivité bronchique nonallergénique. Méthodes de mesure et reproductibilité*. Rev. Mal. Resp. 1994, 11: 171–178.
8. STERK P. J., FABBRI L. M., et al., *Airway responsiveness: standardised challenge testing with pharmacological, physical and sensitising stimuli in adults*. Eur. Respir. J., 1993, 6: 53–83.
9. BADIER M., et al., *Tests de provocation bronchique. Comparaison de deux méthodes d'inhalation*. Press Med., 1993, 22: 1169–1174.
10. MIHALAȘ G., PETROIU A., SCHNEIDER F., TUDORAN M., MIHALAȘ G. I., *Nifedipine effects on bronchomotor responsiveness in single doses*. Fiziologia – Physiology, 5/1–2 (7): 21–24.
11. TOWNLEY G. R., et al., *The role of calcium channel blockers in reactive airway disease*. Annals New York Academy of Sciences, 1988, 522: 732–745.



12. PATEL K. R., *The effect of calcium antagonist, nifedipine in exercise-induced asthma*, Clin. Allergy, 1981, 11: 429-432.
13. PATEL K. R., *The effect of verapamil on histamine and methacholine induced bronchoconstriction*. Clin. Allergy, 1981, 11: 441-447.
14. O'BYRNE P. M., *Eicosanoids and inflammatory cells in asthma*. In AAS 31: Mediators in Airway Hyperactivity. Eds. Nijlamp E., Birkhauser Verlag, Basel, 1990: 85-101.
15. D'BROT J., *Effect of calcium antagonist gallopamil on antigen-induced early and late bronchoconstrictor responses in allergic sheep*. Am. Rev. Resp. Dis., 1989, 139: 915-920.
16. BOWLER S. D., SMITH S. M., et al., *Heparin inhibits the immediate response to antigen in the skin and lungs of allergic subjects*. Am. Rev. Respir. Dis., 1993, 147: 160-163.
17. AHMED T., GARRIGO J., DANTA I., *Preventing bronchoconstriction in exercise-induced asthma with inhaled heparin*. N. Engl. J. Med., 1993, 329: 90-95.
18. POLOSA R., *Time course of changes in adenosine 5-monophosphate airway responsiveness with inhaled heparin in allergic asthma*. J. Allergy Clin. Immunol., 1997, 99: 338-344.
19. MADAMA V. C., *Pulmonary function testing*. Delmar Publishers inc., 1993: 106-147.
20. MAREK W., ULMER W.T., *Dependence of airway resistance and intrathoracic gas volume on airflow and respiratory frequency in health adults*. Pneumologie, 1995, 49 (7): 410-412.
21. BYLIN G., LAGERSTRAND L., et al., *Variability in airway conductance and lung volume in subjects with asthma*. Clin. Physiol., 1995, 15: 207-218.
22. LI J. T., O'CONNELL E. J., *Clinical evaluation of asthma*. Ann. Allergy Asthma Immunol., 1996, 76 (1): 1-13.
23. *Guidelines for the diagnosis and management of asthma*. National Asthma Education Program, Expert Panel Report, National Institutes of Health, Publ. No. 91-3042, Bethesda, Maryland, 1991.
24. RHODES M. L., *Pulmonary function testing; in Internal Medicine*; Stein J. H. (ed); Ed. II, 1987, Little Brown and Comp, Boston/Toronto.
25. GOLD W. M., *Pulmonary function testing; in Textbook of respiratory medicine*; Murray J. F. și Nadel (Med), Ed. II; W. B. Saunders Company, Vol 1: 789-883, 1994.
26. GAUTRIN D., DIAQUINO L. C., GAGNON G., MALO J. L., CARTIER A., *Comparison between PEF and FEV<sub>1</sub> in monitoring of asthmatic subjects at an outpatient clinic*, Chest, 1994, 106: 1419-1424.
27. DEKKER F. W., SCHRIER A. C., STERK P. J., DIJKMAN J. H., *Validity of peak expiratory flow measurement in assessing reversibility of airflow obstruction*, Torax, 1992, 47: 162-166.
28. HARGREAVE F. E., DOLOVICH J., NEWHOUSE M. T., *The assessment and treatment of asthma*, J. Allergy Clin. Immunol., 1990, 85: 1098-1111.



44. SCHNEIDER F., BUNU C., TĂNASIE G., MEDERLE C., PĂUNESCU V., *Human bronchial responsiveness. Local mechanism of modulation*, Fiziologia, Physiology, 1996, 3, 6: 7–12.
45. BUNU C., MIHALAŞ G., *Ventilometric tests and Raw evaluation*, Fiziologia, Physiology No 3 (11); vol. 6, 1996, p. 31–34.
46. PATTON H. D., *Airway resistance*, in Physiology, ed. 21, W. B. Saunders comp., Philadelphia, 1989, vol 2, p. 1001–1006.
47. SELKURT E. E., *Lung mechanism*, in Physiology, ed. 5, Little Brown and Comp., Boston-Toronto, 1989, p. 373–391.
48. NIEWOCHNER D. E., KLEINERMAN J., *Morphologic basis of pulmonary resistance in human lungs and effects of aging*, J. Appl. Physiol., 1974, 36: 412–418.
49. HOPPIN F. G., GREEN M., *Relationship of central and peripheral airway resistance in dogs*, J. Appl. Physiol., 1978, 44: 728–737.
50. VAN BRABANDT A., CAUBERGS M., VERBEKER E., *Partitioning of pulmonary impedance in excised human and canine lungs*, J. Appl. Physiol., 1983, 55: 1733–1742.
51. BASSINI A. G., GIRGIS R. E., THEODORE J., *Detection of small airway dysfunction using sGAw*, Chest, 1997, 111, 6: 1533–1535.



Lucrarea răspunde unei necesități stringente de informare și instruire a medicilor practicieni, cercetătorilor și studenților interesați de stadiul actual al cunoștințelor referitoare la particularitățile funcționale și bazale neuro-umorale și celulare ale contractilității musculaturii netede de la nivelul căilor respiratorii.

Întregind datele noi din literatură cu rezultatele interesantelor cercetări personale, autorii realizează o valoroasă, utilă și intens trăită operă științifică.

Oferind cunoștințe teoretice și tehnice de mare actualitate și utilitate, lucrarea se adresează astfel tuturor celor preocupați de cunoașterea și însușirea achizițiilor cognitive și aplicative noi din domeniul bronhomotricității normale și patologice.